

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TEMEL TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Biltan Ersöz

137972

ANJİOTENSİN II RESEPTÖR ANTAGONİSTİ
TELMİSARTANIN
ENDOTEL DİSFONKSİYONUNA
ETKİSİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

137972

UZMANLIK TEZİ
Dr. Burcu BARUTÇUOĞLU

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. M. Işıl MUTAF

İZMİR, 2003

TEŞEKKÜR

Sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük katkı ve emekleri olan sevgili hocalarım Prof. Dr. Biltan Ersöz, Prof. Dr. Gülriz Menteş, Prof. Dr. Oya Bayındır, Prof. Dr. Necla Nişli, Prof. Dr. Fatma Z. Kutay, Prof. Dr. Taner Onat, Prof. Dr. Dilek Özmen, Prof. Dr. Sara Habif, Prof. Dr. Eser Y. Sözmen, Prof. Dr. Tijen Tanyalçın, Doç. Dr. Nevbahar Turgan, Doç. Dr. Gülinnaz Alper, Doç. Dr. Ferhan G. Sağın, Doç. Dr. Hakan Aydın'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, hoşgörü ve desteğini esirgemeyen, çalışma heyecanı ve coşkusunu paylaşan değerli tez hocam Doç. M. Işıl Mutaft'a,

Birlikte olduğumuz süre boyunca bana her konuda destek olan Uzm. Dr. İnci Güner, Uzm. Dr. Dilek Erdener, Uzm. Dr. Zuhâl Parıldar, Uzm. Dr. Ceyda Kabaroğlu'na,

Tüm asistan ve sağlık teknisyeni arkadaşlarıma,

Kardiyoloji Anabilim Dalı ve İç Hastalıkları Endokrinoloji Bilim Dalı'na,

Ve herşey için aileme,

En içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Dr. Burcu Barutçuoğlu

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ENDOTEL DİSFONKSİYONU	3
2.1.1. Endotel Disfonksiyonu ve Vazoaktif Maddeler	5
2.1.1.1. Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktörler	5
2.1.1.1.1. Nitrik Oksid (NO)	5
2.1.1.1.2. Prostosiklin.....	11
2.1.1.1.3. Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF)	12
2.1.1.1.4. Bradikinin.....	12
2.1.1.2. Endotel Kaynaklı Kasıcı Faktörler.....	13
2.1.1.2.1. Vazokonstriktör Prostaglandinler	13
2.1.1.2.2. Endotelin (ET).....	13
2.1.1.2.3. Reaktif Oksijen Türleri	19
2.1.1.2.4. Anjiotensin II	21
2.1.2. Endotel Disfonksiyonu ve Koagülasyon Göstergeleri	22
2.1.2.1. Vasküler Endotelden Salınan Antikoagulan Faktörler.....	24
2.1.2.1.1. Protein C Antikoagulan Yolu.....	24
2.1.2.1.2. Trombomodulin.....	25
2.1.2.2. Vasküler Endotelden Salınan Prokoagulan Faktörler	28
2.1.2.2.1. Prostaglandin I ₂ (PGI ₂) ve Tromboksan A ₂ (TxA ₂)	28
2.1.2.2.2. Faktör 8 ve von willebrand Faktör (F8-vWF).....	28
2.1.2.2.3. Doku Faktörü	29
2.1.3. Endotel Disfonksiyonu ve Fibrinolitik Aktivite.....	29
2.1.3.1. Doku Plazminojen Aktivatörü (t-PA).	30
2.1.3.2. Plazminojen Aktivatör İnhibitörleri (PAI-1).....	32
2.1.4. Endotel Disfonksiyonu ve İmmün Yanıt Göstergeleri.....	34
2.1.4.1. İmmünglobulin Süperaillesi	35
2.1.4.1.1. Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 (VCAM-1, CD106).....	35
2.1.4.1.2. Trombosit Endoteliyal Hücre Adezyon Molekülü-1 (PECAM-1, CD31)	36
2.1.4.2. İntegrinler	38
2.1.4.3. Selektinler	39
2.1.5. Hiperhomosisteinemi	39
2.1.6. Endotel Disfonksiyonu ve Brakiyal Arter Doppler Ölçümü.....	40
2.1.7. Paraoksonaz.....	41
2.2. HİPERTANSİYON	44
2.2.1. Hipertansiyonun Tanımı ve Sınıflaması.....	44
2.2.2. Etiyoloji.....	45
2.2.3. Esansiyel Hipertansiyonun Fizyopatogenezi	45
2.3. DİABETES MELLİTUS	50
2.3.1. Tip II DM	50
2.3.1.1. Tip II DM Fizyopatogenezi.....	51
2.3.2. DM'da Gelişen Kronik Komplikasyonlar	52

2.4. HİPERTANSİYON ve TİP II DİABETES MELLİTUS BİRLİKTELİĞİ 57

2.5. ANJİOTENSİN II RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ 60

2.5.1 Renin Anjiotensin Sistemi..... 60

2.5.2 Telmisartan..... 66

3. ARAÇ GEREÇ ve YÖNTEMLER67

3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması 67

3.2. Çalışmanın Yürütülmesi..... 70

3.3. Örneklerin Alınması ve Saklanması..... 71

3.4. Cihazlar ve Sarf Malzemeler..... 72

3.5. Hazır Kitler..... 72

3.6. Paraoksonaz ölçümünde kullanılan madde ve çözeltiler 73

3.7. Nitrat ölçümünde kullanılan madde ve çözeltiler 73

3.8. Laboratuvar Yöntemleri 73

3.8.1. Örneklerin Çalışmaya Hazırlanması 73

3.8.2. Human solübl Trombosit Endoteliyal Hücre Adezyon Molekülü-1 (PECAM-1) ölçümü..... 74

3.8.3. Human solübl Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 (VCAM-1) ölçümü..... 74

3.8.4. Human doku plazminojen aktivatör (t-PA) ölçümü..... 75

3.8.5. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) ölçümü 75

3.8.6. Trombomodulin (CD141) ölçümü 75

3.8.7. Mikroalbuminüri ölçümü 76

3.8.8. Nitrat ölçümü 76

3.8.9. Paraoksonaz ölçümü 77

3.9. Brakiyal Arter Akıma Bağlı Vazodilatasyon (ABVD) Ölçümü 77

3.10. Ambulatuvar Kan Basıncı Ölçümü 78

3.11. İstatistiksel Analizler..... 78

4. BULGULAR.....79

4.1. Grupların Demografik Verileri 79

4.2. Grupların Laboratuvar verileri 79

4.3. Sistolik Kan Basıncı..... 82

4.4. Diastolik Kan Basıncı 83

4.5. Mikroalbuminüri 84

4.6. Paraoksonaz..... 85

4.7. Nitrat 86

4.8. Doku Plazminojen Aktivatörü..... 87

4.9. Plazminojen Aktivatör İnhibitörü 88

4.10. Trombomodulin..... 89

4.11. PECAM-1..... 90

4.12. VCAM-1 91

4.13. Akıma Bağlı Vazodilatasyon 92

4.14. Nitrogliserin Bağımlı Vazodilatasyon..... 93

5. TARTIŞMA.....	94
6. ÖZET.....	109
7. KAYNAKLAR.....	111



1. GİRİŞ ve AMAÇ

20. yüzyılın başlarında endotel tüm kan damarlarının iç yüzeyini kaplayan pasif bir tabaka olarak tanımlanmıştır. 1970 yılında Moncada ve Vane endotel hücrelerinin trombosit agregasyonunu engelleyen ve vasküler relaksasyona neden olan prostoglandin I₂ (prostosiklin) salgıladığını gözlemlemişlerdir. 1980’de Robert Furchgott ve arkadaşları tarafından endotel hücresinde sentezlenen endotel kaynaklı gevşetici faktörün bulunması ile vasküler endotelin önemli bir kardiyovasküler düzenleyici organ olduğu fikri oluşmaya başlamıştır. 1987’de Moncada nitrik oksidin endotel kaynaklı gevşetici faktör olduğunu göstermiştir. Bundan sonra endotel üzerine yapılan çalışmalar ivme kazanmıştır ve günümüzde endotel hücresinin sentezlediği ve salgıladığı bir çok bileşik bulunmuştur.

Çeşitli patolojik durum ve hastalıklarda endotel fonksiyonu bozularak endotelden salınan faktörlerde artma ve azalma yönünde dengeler bozulur. Bu tabloya **endotel disfonksiyonu** denir. Esansiyel hipertansiyon, Diabetes Mellitus, ateroskleroz, konjestif kalp yetmezliği, yaşlanma ve pulmoner hipertansiyon gibi hastalıkların patofizyolojilerinde endotel disfonksiyonu önemli rol oynamaktadır.

Ortalama yaşam süresi ülkemizde ileri yaşlara kaymaktadır. Bunun bir sonucu olarak orta ve ileri yaşlarda gelişen hastalıkların insidansı artmaktadır. Bunlar içerisinde hipertansiyon ve tip 2 Diabetes Mellitus (DM), toplum sağlığını en çok tehdit edenlerden olup, yol açtığı patolojik süreçlere bağlı mortalite ve morbidite ilk sıraları almıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, kontrol altına alınmayan hipertansiyon ve tip 2 DM’un morbidite ve mortalite riski taşıdığını göstererek bu sonucu desteklemektedir.

Ancak halen Diabetes Mellitus’un prevalansı tam olarak bilinmemektedir. Amerika Birleşik Devletleri’nde 6.8 milyon insanın diabetli olduğu tespit edilmiştir. Vakaların yarısının tanısı olmadığı göz önünde bulundurulursa bu rakamın ortalama 14 milyon kadar olduğu tahmin edilmektedir. Dünyada 600 milyon hipertansiyon hastası vardır. Bunların yılda 3 milyonu direkt hipertansiyona bağlı nedenlerden ölmektedir. Hipertansif hastaların sadece yarısına tanı konulabilmektedir. Tanı konulanların sadece yarısı tedavi görmektedir. Tedavi görenlerin de sadece yarısı kontrol altına alınabilmektedir. Sonuç olarak tüm hipertansif hastaların yalnızca %12.5’i yeterince kontrol altına alınabilmektedir. 1999’da WHO-ISH rehberinde de ‘yarılar kuralı’ olarak bu durum vurgulanmıştır.

Yaklaşık 27-28 yıl önce anjiotensin converting enzim (ACE) inhibitörlerinin geliştirilmesi ile kan basıncı regülasyonu dışında damarsal veya postmiyokardiyal infarktüs remodellinginde azalma ya da diabetik nefropatiden korunma sağlanabileceği gösterilmiştir. Fakat ACE inhibitörü tedavisi sırasında gelişen kuru öksürük, ACE'den bağımsız olarak çalışan doku renin anjiotensin sisteminin bulunması, istenen kan konsantrasyonlarının sağlanamaması ile optimum kan basıncı düzeylerinin yakalanamaması, kronik kullanımdan ötürü aldosteron supresyonunda yetersizlik, anjiotensin reaktivasyonu, aşırı bradikinin salınımı gibi daha bir çok neden ACE inhibisyon tedavisine alternatif arayışlar doğurmuştur. 1995 yılında Losartan ve 1997'de Valsartan'ın keşfi ile anjiotensin II (AII) antagonistleri yada diğer adı ile SARTAN ailesi hipertansiyon tedavisinde yeni bir çıkış açmıştır. Telmisartan 1998 yılında bulunmuş ve tedavi alanına girmiştir.

Bu çalışmamızda, endotelial disfonksiyona neden olabilen esansiyel hipertansiyon ve tip 2 Diabetes Mellitus ile birlikte olan hipertansiyonda, serum nitrik oksid, paraoksonaz, trombomodulin, trombosit endotelial hücre adezyon molekülü-1, vasküler hücre adezyon molekülü-1, doku plazminojen aktivatörü, plazminojen aktivatör inhibitörü-1, idrar albumin düzeylerinde meydana gelen değişiklikleri saptamak ve bir anjiotensin II antagonisti olan telmisartanın yüksek tansiyon regülasyonunu sağlarken endotel disfonksiyonunu düzeltici yönde etkisi olup olmadığını bu parametreler üzerinden değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 ENDOTEL DİSFONKSİYONU

Endotel

Endotel damar duvarı ve dolaşan kan arasında tek sıra endotel hücresinden oluşmuş fonksiyonel bir bariyerdir. İnsanlarda vasküler ve kapiller sistem 1000 m² yüzey alanı ve 10¹³ endotel hücresi içerir (1).

Endotel katmanı eskiden düşünüldüğü gibi kan damarlarının içini kaplayan, dokularla kan arasında bulunan pasif yarı geçirgen bir hücre tabakası değil, tersine sentezlediği ve salgıladığı mediyatörler ile vasküler homeostazda çok önemli rol oynayan, vücudun her tarafına yayılmış, pek çok yaşamsal faaliyeti yöneten bir organdır (2). Endotel hücreleri homeostaz, vazoaaktivite, immun reaksiyonlar ve inflamatuvar olaylarda rol alır. Normal endotelin damar homeostazında bu derece önemli rol oynamasından ötürü vazospazm, trombüs oluşumu ve damar proliferasyonu ile seyreden hastalıkların patogenezinde endotel disfonksiyonunun önemli etkileri olduğu tahmin edilebilir.

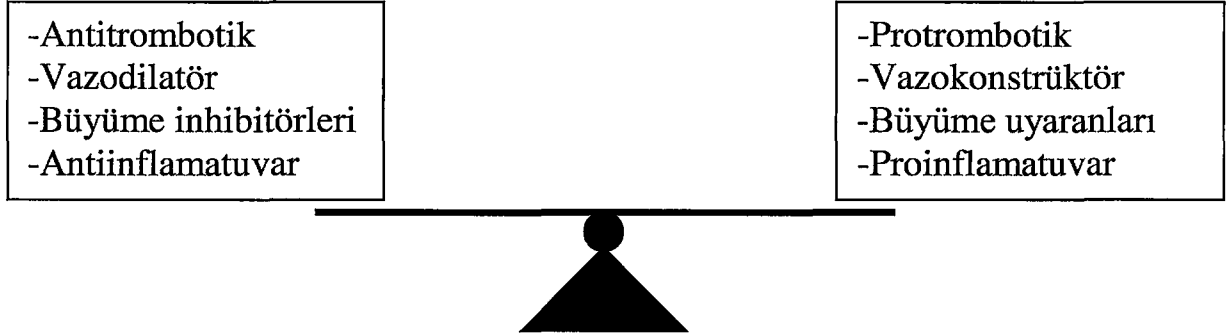
Normal Endotel Fonksiyonu

- Damar endoteli hemodinamik değişiklikler ve dolaşım kaynaklı sinyaller sayesinde uyarılır. Endotel bu fiziksel ve kimyasal uyarılardan etkilenerek çeşitli vazoaaktif, tromboregülatuvar maddeler, sinyal molekülleri ve büyüme faktörleri sentezler ve salgılar.
- Antikoagulan, antiplatelet ve fibrinolitik görevleri vardır. Bu faktörler yardımı ile endotel yapışmayan (nonadhesiv) ve kan akımının düzgün akışını sağlayan bir tabaka oluşturur.
- Dolaşımdaki lipoprotein ve eikozonoidlerin metabolizmasına yardım eder.
- Yüksek moleküllü protein ve lipoproteinlerin çevre dokuya infiltrasyonuna karşı selektif bariyer görevi görür.
- Dolaşım kaynaklı sinyallerin iletiminde rol alır.
- Vasküler büyüme, lökosit adezyonu ve immunolojik regülasyon görevi görür.
- Altında bulunan damar düz kaslarının tonusunu çeşitli farmakolojik ve fizyolojik uyarılara yanıt olarak kontrol eder. Bu olay bir dizi membran reseptörü, kompleks intrasellüler yollar ve çeşitli kasıcı/gevşetici faktörlerin sentezi ve salınımını kapsar.

Endotel bir çok mekanizma ile vasküler sağlığın devamlılığını sağlamaya çalışır (3).

Endoteldeki Fizyopatolojik Denge

Daha öncede belirtildiği gibi endotel damar tonusunun devamlılığı, trombosit ve lökosit adezyonunun inhibisyonu, düz kas hücre proliferasyonunun inhibisyonu ve damar duvarında okside LDL'nin birikimini bloke etmek gibi fonksiyonlara sahiptir.



Şekil 1: Damar endotelinin sağladığı homeostatik denge

Endotel Hasarı

Endotel hasarı vasküler hastalıkların patogeneğinde ve trombüs oluşumunda kritik bir rol oynar. Antitrombotik-protrombotik, vazorelaksan-vazokonstrüktör, büyüme inhibitörleri-uyarıcıları, antiinflamatuvar-proinflamatuvar olaylar arasındaki fizyopatolojik denge bozulur. Endotel tabakası fizyolojik fonksiyonlar üzerine uygunsuz ve anormal uyarılar gönderir. Klinik olarak endotel disfonksiyonu vazospazm, trombüs oluşumu, hipertansiyon ve ateroskleroz olarak karşımıza çıkar. Endotel disfonksiyonunda en sık görülen patoloji aterosklerozdur. Bu olay endotel tabakasının yıkımı ile sonuçlanır (4).

Endotel Disfonksiyonu İçin Risk Faktörleri

Hipertansiyon, hiperkolesterolemi, diabetes mellitus ve sigara gibi risk faktörleri oluşturdukları oksidatif stres yolu ile endotel disfonksiyonuna neden olabilir (5). Kardiyovasküler risk faktörleri ortaya çıktığında, homeostatik denge bozularak, vazokonstriksiyon, hipertansiyon, hücre adezyonu, tromboz, düz kas hücrelerinde proliferasyon ve damar duvarında lipid birikimi meydana gelir. Bu süreç aterosklerotik damar plağı oluşumu ile sonuçlanır (6).

Endotel Fonksiyon Göstergeleri ve Diğer Testler

- Plazma ve idrarda nitrik oksid ve metabolitlerinin ölçümü
- Nitrik okside bağlı vazomotor aktivitenin bazı fonksiyonel testler ile ölçülmesi
 - İnvaziv koroner testi
 - İnvaziv ön kol testi: Pletismografi metodu
 - Noninvaziv koroner testi – Pozitron emisyon tomografi
 - Noninvaziv ultrason metodu (akıma bağımlı vazodilatasyon)
- Endotel fonksiyonunun dolaşımdaki göstergeleri
 - Asimetrik dimetilarjinin (nitrik oksid sentazın endojen inhibitörü)
 - Endotelin-1 (ET-1)
 - Von Willebrand faktör (vWF)
 - Doku tipi plazminojen aktivatör (t-PA)
 - Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1)
- Adezyon molekülleri
 - Hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1)
 - Vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1)
 - Trombosit endoteliyal hücre adezyon molekülü (PECAM-1)
 - E-selektin
 - P-selektin

2.1.1. Endotel Disfonksiyonu ve Vazoaktif Maddeler

Endotel kasıcı ve gevşetici olan bir çok madde salgılar. Bu faktörlerin uyum içinde salınması damar sağlığının korunmasında önemli rol oynar.

- Gevşetici faktörler: Nitrik oksid (NO), prostasiklin (PGI₂), hiperpolarize edici faktör, bradikinin, adrenomedüllin, vb.
- Kasıcı faktörler: Endotelin, tromboksan A₂ (TxA₂), prostaglandin H₂ (PGH₂), anjiotensin II, serbest radikaller, vb.

2.1.1.1 Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktörler

2.1.1.1.1 Nitrik oksid (NO)

İlk olarak Furchgott ve Zawadzki 1980 yılında endotel kaynaklı gevşetici faktörün (EDRF: Endothelium Derived Relaxing Factor) vasküler tonus üzerine olan etkilerini tespit etmiştir.

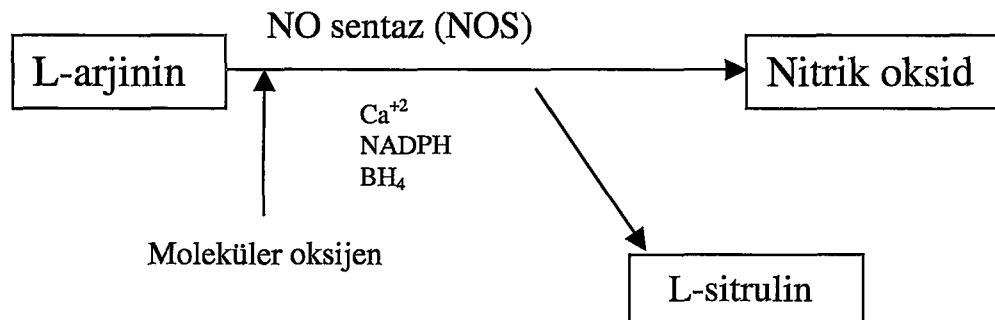
Yaptıkları çalışmada intakt ve perfüzyonu düzgün olan tavşan aort kesitlerinde noradrenalin ile oluşturulan vazokonstriksiyonun asetilkolin ile vazorelaksasyona dönüştüğü fakat endotel tabakası çıkarılan aort kesitlerinde vasküler düz kasın vazodilatasyon yeteneğinin kaybolduğu gözlenmiştir. Bu nedenle EDRF olarak tanımladıkları nonprostanoid vazodilatör bir maddenin varlığına işaret etmişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu yeni faktörün normal endotel tarafından salındığı ve çeşitli ilaç ve ilaç dışı maddeler ile salınımının arttırıldığı gözlenmiştir (7). Bundan 7 yıl sonra EDRF'nin nitrik oksid olduğu tespit edilmiştir (8).

NO Sentezi

L-arjininin guanidin N terminalinden nitrik oksid sentaz (NOS) tarafından sentezlenir. NOS'un tip I (nöronal: nNOS), tip II (indüklenebilen: iNOS) ve Tip III (endoteliyal: eNOS) olmak üzere 3 formu vardır. iNOS Ca^{+2} 'dan bağımsızdır ve bir çok hücre çeşidinde vardır (örneğin damar düz kas hücreleri). eNOS endotele özgüdür. eNOS ve nNOS vücutta kardiyovasküler fizyolojide rol oynayan bir çok hücrede bulunur. Bu izoformlar Ca^{+2} /kalmodulin bağımlıdır. iNOS ise kalmoduline sıkı bağlanır. Bu nedenle aktivitesi hücre içi kalsiyum konsantrasyonundan bağımsızdır.

NOS L-arjinin analogları ile inhibe olur. Örneğin NG-monometil-L-arjinin / NG-nitro-L-arjinin gibi. İmmunolojik stimulus da NO sentezine neden olur.

NO yapımı endotele bağımlı relaksasyonun temelini oluşturur. Bu etki koroner, sistemik, mezenterik, pulmoner ve serebral arterlerde meydana gelir.



Şekil 2: Nitrik oksid sentezi. BH₄: tetrahidrobiyopterin

NOS aktivasyonu endotel hücresi içindeki Ca^{+2} konsantrasyonuna bağlıdır. Ca^{+2} kalmoduline bağımlıdır. NOS aktivitesi için NADPH ve 5,6,7,8-tetrahidrobiyopterin (BH_4) gereklidir (9, 10). NOS aktive olunca fazla miktarda NO sentezi sağlanır. Bu aktivasyon azalmış nikotin NADPH ve BH_4 konsantrasyonlarından negatif yönde etkilenir. BH_4 eksikliğinde NOS sentezi azalır. Böylece güçlü oksidanlar olan süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit yapımı artar (11). iNOS tarafından indüklenen aşırı NO sentezi NO'nun fizyolojik etkilerinin abartılı olmasına neden olur. Ayrıca sitostatik ve toksik etkiler de oluşturabilir. iNOS ekspresyonu sitokinler tarafından dengede tutulur. Hücrelerde iNOS'un de novo sentezi çeşitli inflamatuvar sitokinler ile uyandırılabilir. Örneğin $TNF-\alpha$, $IL-\beta$ ve $IF-\alpha$ kardiyovasküler homeostazda görevli tüm hücrelerde iNOS ekspresyonunu artırır. Fakat $IL-4$, $IL-8$, $IL-10$ ve $TGF-\beta$ iNOS ekspresyonunu azaltır (9,10).

NOS NG-monometil-L-arjinin (L-NMMA) veya NG-nitro-L-arjinin metil esteri (L-NAME) gibi L-arjinin analogları ile kompetatif inhibisyona uğrar (9).

NOS'un inhibisyonu çoğu vasküler yatakta vazokonstriksiyona ve sistemik arteriyel kan basıncında artmaya neden olur.

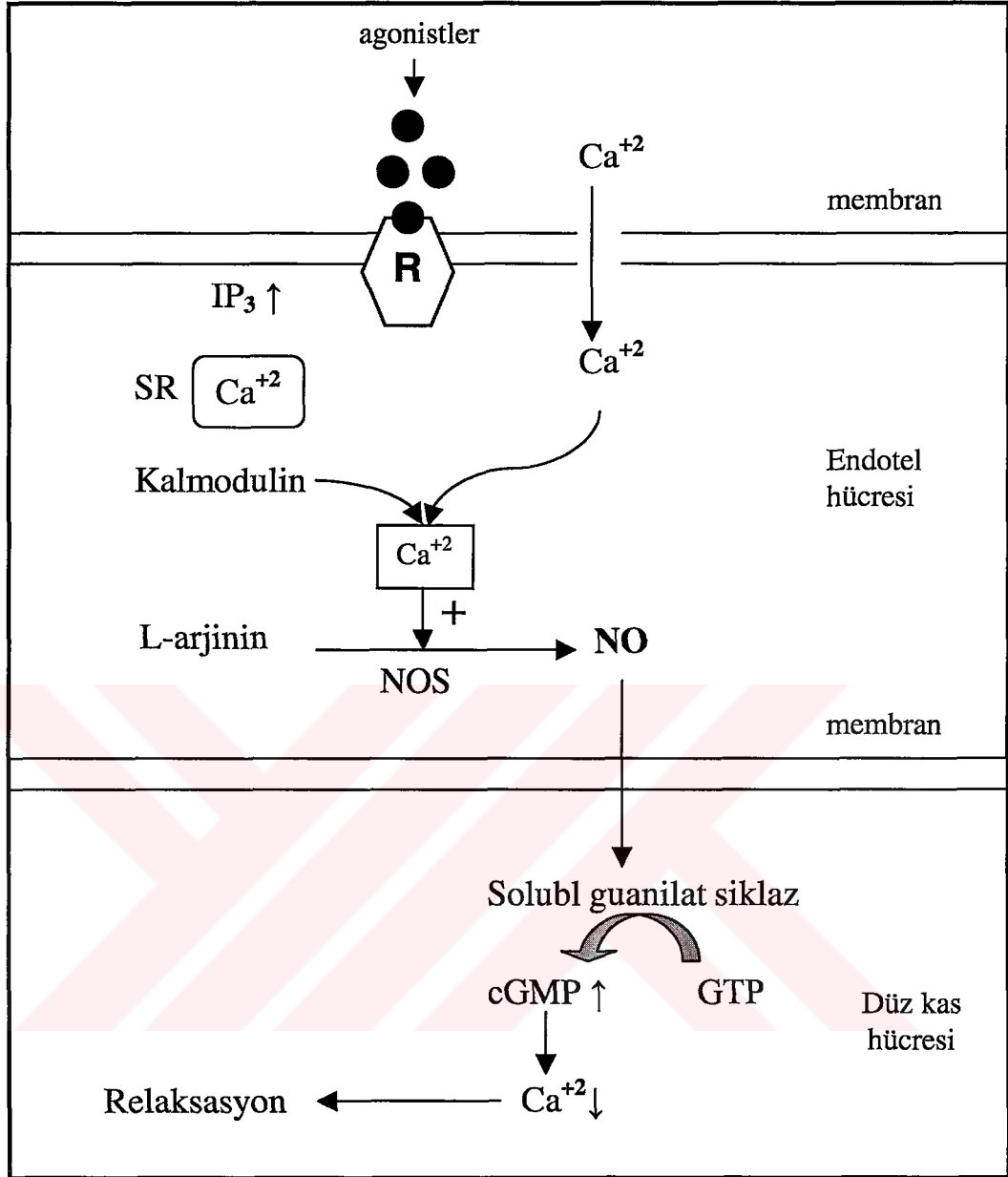
NO endotel hücresinde sentezlendikten sonra damar düz kas hücrelerine diffüzyon ile girer. Burada sitozolik enzimlerden solubl guanilat siklazı stimüle eder. Siklik 3'5'-guanozin monofosfat (cGMP) artar. Vasküler düz kas hücrelerinde relaksasyon meydana gelir (10).

Endotel hücresi NO'yu sadece damar düz kaslarına doğru salgılamaz, ayrıca damar lümenine doğru da salgılar. Böylece NO trombositlerin ve lökositlerin endotel üzerine adezyonunu inhibe eder. Prostatiklinle sinerjik çalışarak trombosit agregasyonunu inhibe eder. Damar düz kas hücrelerinin büyümesini inhibe eder.

NO'nun salınımı fiziksel ve humoral uyarılarla regüle edilir. Fiziksel uyarılardan arter duvarında kan akımının oluşturduğu shear stres lokal olarak NO salınımına neden olur.

İn vivo şartlarda akımla uyarılan vazodilatasyon endotele bağımlıdır. Kan akımında hızlanma veya kan akımının pulsatil olması ile NO salınımı artar.

Çeşitli nörohumoral mediyatörler spesifik endotel reseptörleri üzerinden NO salınımını uyarır. NO salınımını uyaran endojen maddeler; dolaşımdaki hormonlar (katekolaminler, vazopressin), damar duvarındaki otokoidler (bradikinin, histamin) veya trombositler tarafından salınan mediyatörler (serotonin, ADP) ve koagülasyon sırasında oluşan trombindir. Bu maddeler kendilerine özgü reseptörler ile endotel hücrelerinde çeşitli sinyal iletim yollarını aktive ederek NO salınımını sağlar.



Şekil 3: Sitosolik NO salınımında Ca²⁺'un rolü. (IP₃: inozitol trifosfat, SR: sarkoplazmik retikulum, NOS: nitrik oksid sentaz, NO: nitrik oksid, cGMP: siklik guanozin monofosfat)

Endotel hücrelerinde α_2 adrenerjik reseptörleri, serotonin reseptörleri ve trombin reseptörleri pertusis toksinine sensitif G_i proteinleri ile eşleşir fakat ADP veya bradikinin reseptörleri pertusis toksinine sensitif olmayan G_q proteinlerine bağlanarak NO sentezini regüle eder.

Trombosit agregasyonu sırasında salınan maddeler NO salınımını uyarır. Trombosit agregasyonu endotele bağımlı relaksasyonu uyarır ve endotel hücrelerinin varlığı tromboksan A₂ ve serotonin aracılığıyla vazokonstriksiyonu inhibe eder.

Trombositlerin endotel yanıtını regüle eden iki mediyatör vardır. Bunlar ADP ve serotoninidir. 5HT_{1D} serotonin reseptörü ve P_{2y} pürinerjik reseptörleri uyarak vazodilatasyonu uyarır.

Trombosit kaynaklı ürünler ve trombin ile normal endotel üzerine oluşturulan etki sonucu istenmeyen koagulasyon önlenmiş olur. Lokal trombosit agregasyonu sonucu serotonin ve ADP salınımı ve buna ek olarak trombin salınımı (koagulasyon kaskadının lokal uyarılması sonucu) ile NO lokal olarak salınır. Salınan NO endotel altındaki vasküler düz kasları etkileyerek yine arterlerde vazodilatasyona neden olur. Bu reaksiyon mikroagregatların eliminasyonunu kolaylaştırır.

Eğer endotel tabakası çıkarılırsa yada hasar görürse trombosit agregasyonunun NO (prostasiklin ile birlikte) üzerine feed back kontrolü ortadan kalkar. Agregasyon serotonin ve TxA_2 ile devam eder. Her iki mediyatöründe vazokonstrüksiyon etkisi vardır.

NO ve Hipertansiyon

NO hipertansiyonun ve komplikasyonlarının patogenezinde rol oynayabilir. NO yapımını NOS üzerinden inhibe eden ajanlar arterlerde endotele bağımlı kontraksiyona, kan akımında azalmaya ve sonuç olarak hipertansiyona neden olur. NO bağımlı vazodilatasyonda sürekli bir inhibisyon olması hipertansiyona ve buna bağlı hedef organ hasarına yol açar.

Endotel ve NO'nun sistemik hipertansiyondaki rolleri tartışmalıdır. Damar gevşetici diğer faktörlerdeki azalma hipertansiyon patogenezinde bir miktar rol oynar. Hipertansif ratlarda aorta, mezenterik, karotid ve serebral damarlarda endotele bağımlı relaksasyonun bozulduğu, fakat koroner ve renal arterlerde artmış kan basıncının endotel fonksiyonunu etkilemediği gözlenmiştir (9).

Kan Basıncındaki Değişimler ile NO Salınımının Düzenlenmesi

Prostasiklin ve adenozin gibi kan basıncını düşüren bazı ajanların infüzyonu ile NO salınımı azalır. Kan basıncının arttığı durumlarda da NO salınımı artar (12). Endotel hücrelerinde shear stresteeki değişiklik ile NO salınımı artar. Shear stres dışındaki çeşitli mekanik faktörler ile eNOS proteininin mRNA'sı indüklenir. Bu mekanik faktörler kan basıncı ve kanın damar yüzeyine uyguladığı pulsatil gerilim olabilir (13).

İnsan kan basıncının homeostazı için bazal NO salınımı gereklidir. NO'nun inhibisyonu sistemik arteriyel kan basıncının artmasına neden olur. Anjiotensin dönüştürücü enzim normal kan basıncını NO salınımının bir mediyatörü olan bradikinin yıkımını arttırarak düzenler. Hayvan modellerinde akut hipertansiyon ataklarında endotel bağımlı gevşeme kaybolmaktadır (14).

NO ve Hipertansif Kalp Hastalığı

Hipertansiyonun en önemli hedef organlarından biri kalptir. Yüksek kan basıncı nedeni ile kardiyak hipertrofi, miyokardiyal hasar ve sol ventrikül yetmezliği gelişir (14). Yapılan son çalışmalar, hipertansiyonda kardiyak NO yapımının arttığını göstermiştir. Spontan hipertansif ratlarda koroner damarlarda NO salınımında artış saptanarak, kalp endotel hücrelerinde eNOS aktivitesinin normotansif ratlara göre yükseldiği gösterilmiştir. Hipertansif kalpte artan eNOS aktivitesi özellikle sol ventrikülde gözlenmiştir. Bu durum, kan basıncının sol ventrikülde en yüksek düzeyde olmasına bağlıdır. Yüksek kan basıncı eNOS'u upregüle eder ve NO yapımı artar. Normotansif kan basıncı aralığında ise kalp eNOS aktivitesi değişmez (15).

Hipertansif kalpte artmış NO yapımı miyokard kasılmasını azaltmak ve vazodilatasyon sağlamak için kompensatuvar bir mekanizma olarak görev yapmaktadır. Artan kan basıncı kardiyak hipertrofi, fibrosis ve sonuç olarak sol ventrikül yetmezliğine neden olur. NO aktivitesi kalbi hipertrofiye karşı koruyucu bir mekanizmadır. NO damar düz kaslarında hücrel büyüme ve migrasyonu güçlü bir şekilde inhibe eder (15).

Hipertansiyonda NO ve Böbrek

Böbreklerin NO sentezi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Düşük doz NOS inhibitörleri kullanılarak Na^+ ve su ekskresyonu azaltılmıştır. Yüksek kan basıncının NO'nun renal fonksiyonları aracılığı ile indirekt olarak düzenleneceği bilinmektedir. NO'nun anjiotensin II'nin fizyolojik olarak bir antagonisti olduğu bilinmektedir. NO'nun natriürezisi düzenleyerek tuza duyarlı hipertansiyonda kan basıncını düşüreceği öne sürülmüştür (13).

Böbrek medullası basınca bağımlı natriüresisten ve NO'ya bağımlı cGMP yapımından sorumludur. NO medüller kan akımının kontrolünden sorumludur. NOS inhibitörleri kan akımını düşürür. Kortikal kan akımını etkilemez. Bu çalışmaların sonucunda böbrek medullasının kan basıncını düzenlemede böbrek korteksi ve kardiyovasküler sisteme göre daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (13).

NO ve Diabet

Diabette oluşan damarsal bozukluktaki başlıca önemli patolojiler ateroskleroz, tromboz ve hipertansiyondur. Tüm bu durumlarda endotel hücre disfonksiyonu olduğu bilinmektedir. Temelde hepsindeki ortak patoloji uzun süre hiperglisemiye maruz kalma ve buna bağlı endotel hücrelerinde fonksiyonel bozukluktur (16).

Diabette endotel hücre fonksiyonunda değişiklikler hücre içi sinyal iletiminde meydana gelen değişiklikler, aldoz redüktaz aktivitesinde artış, NO hemostazında değişiklik, vazokonstriktör prostanooidlerde artış, endotelinde artış, serbest radikal oluşumunda artış Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde azalma ve erken, ileri glikasyon son ürünlerinde (AGE) artma şeklinde özetlenebilir.

Hiperglisemide glukoz metabolizmasının %30'u poliyol yoluna sapar. Bu yolda glukoz önce sorbitole sonra da fruktoza dönüşür. Hız kısıtlayıcı enzim aldoz redüktaz olup bu enzim endotel hücrelerinde bol miktarda bulunur. Aldoz redüktaz aktifken NADPH kullanır. Hiperglisemi ile bu enzimin aktivitesi arttığında endotel hücrelerindeki NADPH depoları boşalır. Glutasyon redüktaz, nitrik oksid sentaz gibi NADPH gerektiren diğer enzimlerin aktiviteleri kısıtlanır. Yüksek glukoz konsantrasyonlarına maruz kalan hücrelerde serbest radikaller artar. Damar düz kaslarında relaksasyon azalır, kontraksiyon artar.

Diabetes mellitusta endotel kaynaklı gevşemenin azalmasında NO salınımında azalma sorumlu tutulabilir. Bu patoloji NO sentezinde azalma veya damar düz kaslarının NO'ya olan yanıtında azalma nedeniyledir. Diabetiklerde damar düz kas hücrelerinde cGMP düzeylerinde düşüklük saptanamamıştır. Bu bulgular daha çok nitrik oksid fonksiyonunda bir bozukluğun ön planda olduğunu vurgulamaktadır.

Plazma ve hücre proteinleri uzun süre yüksek doz glukozla maruz kalırlarsa AGE oluşur. AGE'ler nitrik oksidi direkt olarak inhibe ederler. NO sentezini uyaran sinyal ileti yolunu değiştirirler. AGE'leri inhibe eden aminoguanidin kullanıldığında diabetik sıçan aortalarında endotel bağımlı relaksasyonun düzeldiği izlenmiştir (16, 17).

2.1.1.1.2 Prostatiklin

İlk olarak Moncana ve Vane tarafından 1976'da bulunmuştur (18). Esas olarak endotel hücrelerinde shear strese, hipoksiye ve NO salınımında rol oynayan bazı mediyatörlere yanıt olarak sentezlenir. Sikloksijenaz yoluyla oluşan arakidonik asit metabolitlerindendir. NO'dan farklı olarak vazodilatör aktivitesini damar düz kaslarında bulunan spesifik reseptörler aracılığı ile oluşturur. Damar düz kasında prostatiklin ile reseptörleri birleşir. Adenilat siklaz aktive olur. cAMP seviyesi yükselerek ATP'ye bağlı K^+ kanalları stimüle edilir. Böylece hiperpolarizasyon oluşur (19). Oluşan hiperpolarizasyon ile kontraksiyon inhibe olur. Hedef hücrede NO ile birlikte ortak etkilerinin yanı sıra prostatiklin endotel hücrelerinde NO salınımını da artırır.

Damar düz kaslarında prostasiklin aktivitesi NO tarafından arttırılır. cGMP’de oluşan artış cAMP’yi yıkan fosfodiesteraz enzimini inhibe eder. NO indirekt olarak da prostasiklinin ikinci mesajcısının ömrünü uzatır.

Bu reseptörlerin bulunmadığı arteriyel yataklarda endotele bağlı vazodilatasyonda prostasiklin rol oynamaz (9).

2.1.1.1.3 Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF)

İnsan koroner arterleri de dahil olmak üzere çeşitli arterlerde yapılan elektrofizyolojik çalışmalarda asetilkolin ve diğer endotele bağımlı dilatörler hiperpolarizasyona ve damar duvarında relaksasyona neden olur. Bu da EDHF’ye bağımlıdır. EDHF NO ve prostasiklinden farklıdır (9).

Kimyasal doğası tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Bazı kan damarlarında sitokrom P450 ile araşidonik asitten yapılan epoksieikozatrienoik asitin (EET) EDHF’ye benzediği gözlenmiştir. Damar düz kaslarında EDHF çeşitli K^+ kanal tipine etki ettiği gözlenmiştir.

Sentetik K^+ kanalları açan maddeler kullanılarak oluşturulan hiperpolarizasyon Ca^{+2} ’a duyarlı voltaj kanallarını kapatarak vazokonstrüksiyonu inhibe eder. Böylece reseptörlere bağımlı fosfolipaz c aktivasyonu bozulur. Ca^{+2} ’un hücre içi depolardan salınımı bozulur. Kontraktil proteinlerin Ca^{+2} ’a olan duyarlılığı azalır. İnsan koroner arterlerinde arter çapı azaldıkça EDHF’nin önemi artar. EDHF’nin muhtemelen periferik vasküler rezistans ve lokal hemodinami regülasyonu üzerine belirgin etkisi vardır.

NO’nun yüksek olması cGMP aracılığı ile EDHF yolunun bozulmasına neden olur. Bu etki NO’nun araşidonik asid antagonistleri ile araşidonik asidin mobilizasyonunu azaltması sonunda olur. NO tarafından EDHF’nin azaltılması sadece NO çok fazla miktarda yapıldığı örneğin proinflamatuvar durumlarda olabilir.

Büyük arterlerde hem NO hem de EDHF endotele bağlı vazodilatasyonda görev alır, fakat NO’nun etkisi daha belirgindir. Eğer bu arterlerde NO sentezi inhibe olmuşsa EDHF normale yakın relaksasyonu korumaya çalışır (9, 19).

2.1.1.1.4 Bradikinin

Bradikinin kinin ailesinin bir üyesi olup bir doku hormonudur. Kallikrein tarafından aktive ve anjiotensin converting enzim tarafından inaktive edilir. Kardiovasküler hastalıkların oluşum patogenezinde önemli rolü vardır (19).

Endotel hücrelerinde B_2 kinin reseptörleri vardır. G_q ve G_i sinyal ileti proteinleri üzerinden B_2 kinin reseptörleri ile endotel hücresinde birleşir.

Fosfolipaz c aktive olur. Ca^{+2} intraselluler depolardan salınır. Hücre içine Ca^{+2} girişi artar. Protein tirozin kinaz bağımlı mekanizma ile NO sentezi uyarılır. Fosfolipaz A₂ aktivasyonu ile membranda vazoaaktif mediyatörler sentezlenir. Bu şekilde bradikinin indirekt olarak vazodilatasyona neden olur (9, 19).

Bradikinin β_2 reseptörleri aracılığı ile damar düz kas relaksasyonu, damar permeabilite artışı, mast hücrelerinden histamin salınımı, doku inflamasyonu, sempatik sinir eksitasyonu ile kateşölämin salınımı, membranlardan glukoz transportu ile insüline sensitivitenin artması gibi direkt etkileri de vardır.

Bradikinin reseptörlerini stimüle eden maddeler; NO, PGI₂, PGE₂, PGF_{2 α} , adrenalin, noradrenalin, histamin, PAF ve bazı interlökinlerdir.

2.1.1.2 Endotel Kaynaklı Kasıcı Faktörleri

2.1.1.2.1 Vazokonstrüktör Prostaglandinler

Araşidonik asidin sikloksijenaz ile metabolizması sonucu PGH₂ ve TxA₂ damar düz kas hücrelerindeki endoperoksid ve tromboksan reseptörleri üzerine etki ederek vazokonstrüksiyon meydana getirir. Bu maddelerin sekrete edilmesi asetil kolinle endotele bağımlı relaksasyon yapan maddelerin etkisini zayıflatır. Prostatiklin sikloksijenaz yoluyla meydana gelen major araşidonik asid metabolitidir. Normal şartlar altında küçük miktarda vazokonstrüktör prostonoidlerin vazokonstrüktör etkileri NO, prostatiklin ve EDHF ile maskelenir (20).

2.1.1.2.2 Endotelin (ET)

Endotelinler (ET) 21 amino asitli bir peptid zinciri olup 3 alt gruptan oluşur. Bunlar ET-1, ET-2 ve ET-3'tür. İlk olarak Endotelin-1 1988 yılında Yanagisawa ve arkadaşları tarafından vasküler endotel hücrelerinde saptanmış ve bilinen en potent endojen vazokonstrüktör olarak tanımlanmıştır (21).

ET-1'in büyük bir kısmı damar duvarına doğru salınır. Bu sebeple ET-1'in plazma seviyeleri lokal doku miktarını tam olarak yansıtamaz (22). ET-1 aracılığı ile vasküler miyositler damar tonusu ve duyarlılık regülasyonu için ET-1 üretmeye hızlı bir şekilde adapte olurlar. ET-2 ve ET-3'ün damarlar açısından bir önemi yoktur. ET-2 primer olarak böbrek ve barsaklarda, ET-3 ise nöronlar ve beyin dokusunda sentezlenir (23).

Her 3 endotelin de benzer bir yol izleyerek kendi prekürsör peptidlerinden, preproendotelin (preproET) olarak bilinen 212 asid rezidüsünden meydana gelir.

ET-1 bir çok dokuda ET-2 ve ET-3'den daha fazla bulunmaktadır. ET-1 endotel hücreleri, epitel hücreleri, alveolar makrofajlar, PNL'ler ve fibroblastlar tarafından sekrete edilir. Endotelinlerin salınımı gen ekspresyonu seviyesi ve peptid sentezine bağlıdır. Hücreler endotelin depolayamaz. Endotelin sentezi için gerekli gen ekspresyonu trombin, adrenalin, anjiotensin-II, sitokinler ve büyüme faktörü ile arttırılır (24).

Endotelin için gerekli olan gen ekspresyonu Ca^{+2} 'a bağımlı protein kinaz C aracılığı ile olur. ET-1 ekspresyonu protein kinaz C inhibitörleri ile azalır.

ET-1'in yapımı ve salınımının en potent regülatörü fizyolojik bir faktör olan kan akımıdır. Kan akımındaki artış vazodilatasyona neden olur. Bunu endotel hücrelerindeki shear stres reseptörlerini aktive ederek yapar. Böylece nitrik oksid sentezlenir ve salınır. Böylece ET-1 yapımı ve salınımı azalır (24).

Protein kinaz C aktivasyonu aracılığı ile insulin, trombin, LDL, anjiotensin II, vazopressin ve ET'nin kendisi ET-1 yapımını arttırır. Protein kinaz C ayrıca düşük düzeylerdeki shear stres ile aktive olur. Bu da endoteliyal ET-1 salınımını arttırır. Yüksek shear stres başka bir mekanizmayı uyararak ET-1'in mRNA transkripsiyonunu inhibe eder. Bu etki nitrik oksid sentez inhibitörleri ve metilen blue (guanilat siklaz inhibitörü) ile engellenir (24).

Shear strese yanıt olarak endoteliyal hücreler nitrik oksid sentezler ve salar. Bu ET-1'in cGMP üzerinden inhibe olmasına neden olur. cGMP heparin, atriyal ve beyin natriüretik peptidler, PGE₂ ve prostasiklin aracılığı ile ET-1 inhibisyonu yapar.

ET-1'in plazma yarı ömrü 2 dakikadır. Splanknik ve renal vasküler yataklar tarafından hızlı bir şekilde alınır. ET-1'in akciğerler tarafından eliminasyonu önemli olabilir. ET-1 hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak dolaşımdan hücre içine alınır ve lizozomlarda ET-1 yıkımı olur. Dolaşan ET-1 konsantrasyonları endotelin A/endotelin B (ETA/ETB) reseptör antagonistleri veya ETB selektif antagonistleri ile artar. ETA selektif antagonistleri ile artmaz. Bu durum ETB reseptörlerinin ET-1'in yıkım ve atılımında rol oynadığını açıkça gösterir.

İntrasellüler yıkım enzimi olarak en çok düşünülen solubl proteazlardır. Solubl proteazlar trombositler, vasküler düz kas hücreleri ve endotel hücrelerinde bulunur. Endotelinler ayrıca nötral endopeptidazlar (NEP)'ler tarafından da yıkılabilir. NEP'ler venöz ve arteriyal hücrelerin plazma membranlarında bulunmaktadır. Aktif polimorf nüveli lökositler (PNL)'ler hızlı bir şekilde ET-1'i inaktive ederler. Akut inflamasyonda PNL'lerin vasküler endotel hücrelere adezyonunu takiben ortaya çıkabilir.

İnsanlarda iki tip endoteline spesifik reseptör klonlanmıştır. Bunlar ETA ve ETB'dir. ETA endotelinin ET-1 ve ET-2 tiplerine selektiftir. ETA ET-1 ve ET-2'ye karşı olan yüksek affinitesi ile tanınır, ET-3'e karşı 1/70-1/100 kadar daha düşük affinitesi vardır. ET- A'ya karşı her üç izoformun affinitesi şu şekilde gösterilebilir. ET-1>ET-2>>ET-3 (25). İnsanlarda ETA'ya ET-1'in affinitesi ET-3'e göre 1000 kat daha fazladır.

ETB reseptörlerine karşı her üç izoformunda affinitesi aynı miktardadır, çünkü ETB her üç endotelinde de aynı olan C terminaline spesifiktir (24,25). Her iki reseptör de vazokonstrüksiyonla ilgili olup düz kas hücrelerinde bulunur. Fakat eğer ETB endotelde lokalize ise vazodilatasyona neden olur (25). ETB reseptörlerinin ET-1'in vücuttan atılımında da görevi vardır. Ayrıca distal tübüllerde Na⁺ ve su absorpsiyonuna neden olur (24).

Kardiyovasküler Sistemde Endotelin Sentez Bölgeleri

İnsan kan damarlarında immünoreaktif ET-1 primer olarak endotel hücre katmanında bulunmaktadır. ET-1 endotel hücreleri tarafından salınır. Endotel altındaki vasküler düz kas hücreleri üzerine etki eder (21). Endotelin converting enzim-1'in (ECE-1)'in mRNA'sı insitu hibridizasyon ile en yoğun olarak endotel hücrelerinde gösterilmiştir. Ratların mezenterik yataklarından endoteliyumun temizlenmesi sonucunda ET-1 tamamen yok olmamıştır. Bu da düz kas hücrelerinin de ET-1 sentezlediğini göstermektedir (26). Düz kas hücre kültüründe ET-1 mRNA ekspresyonu ve ET-1 salınımı olmaktadır (27). Fakat insan kan damarları mediasında sadece diffüz immünohistokimyasal boyamalar ile ET-1 gösterilebilmektedir. İlginç olarak ET-1'in immünohistokimyasal boyaması ile insan koroner arterlerindeki aterosklerotik plaklarda özellikle de aktif lezyonlarda makrofajların ve intimal düz kas hücrelerinin üzerinde biriktiği gözlenmektedir (28).

İnsan koroner arterlerinin media tabakasında in situ hibridizasyon ile büyük ET-2'nin immünoreaktivitesi endotelial sitoplazmada ve preproET-2 mRNA'nın media tabakasında tespit edilmiştir. Ayrıca insan düz kas hücre kültürlerinde ET-1'e ek olarak ET-3 salınımı da tespit edilmiştir (24).

Kardiyovasküler Sistemde Endotelin Reseptörlerinin Dağılımı ve Fonksiyonu

Daha öncede belirtildiği gibi vasküler dokuda ETA mRNA özellikle düz kasta bulunurken ETB mRNA genelde endotel hücrelerinde kümelenmiştir. Vasküler düz kasların kasılması ETA reseptörleri aracılığı ile olur. Bu kasılma ETB reseptörlerinin uyarılması ile endotelden salınan gevşetici faktörler tarafından azaltılır (24).

Bazı özel kan damarlarında ET-1 aracılığı ile oluşan vazokonstriksiyon ETA reseptör antagonistlerine duyarlı ve duyarlı olmayan bölümlerden oluşur. İn vivo olarak ET-1'e karşı oluşan pressör yanıtlar her zaman ETA antagonistleri ile tamamen inhibe edilemez. Dahası ETB'ye selektif agonistler in vitro kasılmalara ve in vivo pressör yanıtlara neden olabilir. ETB reseptör mRNA hem insanda arterlerin düz kas hücrelerinde hem de kültür düz kas hücrelerinde saptanmıştır. ETA ve ETB reseptörlerinin vazokonstriksiyon üzerine olan etkileri damarların tipine göre farklılık gösterir. ETB reseptörleri daha çok düşük basınçlı venöz dolaşımda yaygındır. Büyük arterlerde ise vazokonstriksiyon ETA reseptörleri ile gerçekleşir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda küçük arterlerde ETB reseptörlerinin relatif bir fonksiyonu olduğu gözlenmiştir. Patolojik durumlarda reseptörlerin birbiri ile olan dengeleri bozulabilir. Hipertansiyonda ve anjiotensin II etkisi altında düz kas hücre kültürlerinde ETB sayısı artmaktadır (24).

ET-1'in net kontraksiyon etkisi düz kas hücreleri üzerindeki ETA ve endotel hücrelerindeki ETB reseptörlerinin relatif yoğunluğuna bağlıdır.

ET ve Vasküler Reaktivite

Endotelinin intravenöz olarak verilmesi sonucunda geçici bir vazodilatasyon ve bunu izleyen kan basıncı artışı meydana gelir. Kalp atım hızı ve kardiyak output değişmeden total periferik direnç artması sonucu pressör yanıt gelişir. Bu yanıt ETA reseptör antagonistleri ile bloke edilir. ET-1'in direkt vazokonstriktör etkilerine ek olarak ET-1 diğer vazoaktif ajanların kontraksiyon yanıtını artırır. Bu ajanlara örnek norepinefrin ve serotoninidir. Ters norepinefrin ve serotonin ET-1'e yanıt olarak oluşan vazokonstriktör etkiyi artırır. Bu bulgular endotelinin vasküler reaktivitede önemli rol oynadığını gösterir. Sağlıklı kişilerde kombine ETA ve ETB antagonist uygulanması kan akımını hızlandırır. Böylece kan basıncında hafif bir düşme olur. Endotelin vasküler tonus regülasyonunda rol oynamaktadır (29,30).

ET ve Hipertansiyon

Endotelinlerin güçlü vazokonstriktör etkilerinin yanında hafif mitojenik ve hipertrofik etkileri de mevcuttur. ET-1 düz kas hücrelerindeki ETA'ları etkileyerek kontraksiyona neden olur. ETB reseptörleri genelde endotel üzerinde bulunup nitrik oksid ve prostasiklin salınımını uyarak vasküler relaksasyona neden olur. ETB reseptörlerinin aort, pulmoner arter ve çeşitli dokulardaki venlerin düz kas hücrelerinde bulunduğu son zamanlarda gösterilmiştir.

İnsanlarda ETB'ye bağımlı kontraksiyon memeli arterleri ve bazı küçük subkutan arterlerde gösterilmiştir. ETB reseptörleri küçük arterlerde minimal rol oynamaktadır. Endotelinler vasküler hipertrofiye katkıda bulunur ve kan basıncı yükselir. Endotelinler hipertansiyonun patogeneğinde rol oynar (29, 30).

Hayvan modellerinde ET-1'in devamlı infüzyonu ve preproET geninin ekspresyonu ile hipertansiyon oluşmaktadır. Hipertansif hayvan modellerinde dolaşan endotelin seviyeleri belirli bir düzeyde gider. Hipertansiyonun tuza bağımlı tipinde, buna deoksikortikosteron asetatla tedavi olan hipertansif ratlarda dahil, endotelin sistemi aktive olmuştur. Bu modellerde plazma ve vasküler endotelde ET-1 seviyeleri artmıştır. Bu modellerde ET reseptör antagonistleri kan basıncını düşürür. Diğer hipertansif hayvan modellerinde, buna spontan hipertansif ratlarda dahil, ET-1 konsantrasyonları ağır hipertansiyon ile birlikte böbrek yetmezliği olmadan yükselmez (29, 30).

İnsanlarda çeşitli grupların yaptığı çalışmalarda ET-1 seviyelerindeki artışın böbrek klirensindeki bozukluğa bağlı olarak meydana geldiği gösterilmiştir. Hayvan modellerinde olduğu gibi insanlarda da endotelin sistemi renal klirens bozulduğunda tuza duyarlı hipertansiyonda aktive olur. ET-1 seviyeleri tüm hipertansiyon tiplerinde artmaz fakat, ETA ve ETB reseptör antagonistleri hafif hipertansif olgularda kan basıncını düşürebilir (29, 31, 32).

Hem hayvan modellerinde hem de esansiyel hipertansiyonu olan kişilerde ET-1'e karşı vasküler reaktivite artmıştır. ET-1'in rezistan arterlerdeki etkisi inhibe olur ve bu fenomen ET reseptörlerinin down regülasyonuna bağlanmıştır. Diğer yandan venöz sistemdeki ET-1'e bağlı vazokonstriksiyon hipertansif hastalarda artmıştır. Haynes ve arkadaşları ET-1'in hipertrofi etkisi oluşmadan yalnızca vazokonstriktör etkisini göstermek için ET-1'i el venlerine lokal olarak uygulamışlar ve ET-1'e karşı oluşan maksimum kontraksiyon hipertansif hasta grubunda saptanmıştır. Dahası hipertansif hastalarda ET-1, sempatik aktivitenin aracılık ettiği vazokonstriksiyonu artırır. Bu kişilerde ET-1 ile oluşan vazokonstriksiyon ve kan basıncı arasında pozitif bir ilişki vardır. Hipertansiyonun erken dönemlerinde venöz sistem, yüksek kardiyak output oluşumuna katkıda bulunduğu için ET-1'in hipertansiyonun bu devresinde rolü olduğu saptanmıştır (29, 30, 33).

ET-1'in büyümeyi destekleyen özellikleri de hipertansiyonda önemli rol oynamaktadır. ET-1 sistemi aktive olmuş modellerde vasküler hipertrofi mevcuttur. DOCA-salt-sensitif ratlarda ET reseptör antagonistlerinin sürekli kullanımı vasküler proliferasyonu azaltır.

Arterler ve glomerüllerde ET-1 ekspresyonu artmıştır. Bunlarda ET-1'in proliferatif etkisi fibrinoid nekroz ve böbrek yetmezliğine neden olur. Spontan hipertansif ratlarda ET sistemi aktif değildir ve uzun süreli ET reseptör antagonisti kullanılanlarda renal fonksiyonda gelişmeler olmuştur (29, 30).

Plazma endotelin seviyeleri ET-1'in vasküler yapımını yansıtmaz. Bu nedenle hipertansiyonda damar duvarındaki endotelin sentezinin incelenmesi daha yararlı olur. Damar duvarında endotelin yapımının artışı ET reseptörlerinin down regülasyonuna neden olur. Hipertansiflerde RIA ile yapılan çalışmalarda endotelin seviyeleri damar duvarının endotel tabakasında yüksek tespit edilmiştir. Northern blot tekniği ile ET-1 mRNA'sı kan damarlarında yüksek olarak saptanmıştır.

ET ve Hipertansiyonda End Organ Hasarı

ET-1'in sistemik vazokonstriktör etkilerinin yanı sıra kardiyovasküler sistem için bir growth faktördür. Yapılan bir çok in vitro çalışmada endotelinin vasküler düz kas hücrelerinde mitogenezi, hipertrofiyi ve protein sentezini uyardığı gözlenmiştir. ET-1'in uzun süreli büyümeyi uyaran etkileri, hipertansiyonda ET-1'in end organ hasarına yol açabileceği hipotezini ortaya koymuştur. Buna vasküler ve kardiyak hipertrofide dahildir.

ET Antagonistleri ve Deneysel Hipertansiyon

Yapılan çalışmalarda selektif bir ETA reseptör antagonisti olan BQ-123 uygulanması ile spontan hipertansif ratlar ve DOCA-salt hipertansif ratlarda kan basıncı biraz düşürülmüş, fakat renovasküler hipertansif ratlarda kan basıncı düşürülememiştir (34).

ETA ve ETB'yi nonselektif olarak inhibe eden oral ajanlar çıktığından beri vasküler hipertrofi, hipertansiyon ve ET ekspresyonu arasındaki ilişki daha anlaşılır bir hale gelmiştir. DOCA-salt hipertansif ratların uzun süreli kombine ETA/ETB reseptör antagonisti bosentan ile kan basıncı ortalama 20 mmHg kadar düşürülmüş, aynı zamanda rezistan arterlerin vasküler hipertrofisi azaltılmıştır. Bosentan ile tedavi edilen ve tedavi edilmeyen DOCA-salt hipertansif ratlarda kan basıncı ile arter hipertrofisi arasında ilişki bulunmuştur. Tedavi edilmeyenlerde aşırı hipertrofi saptanmaktadır. DOCA-salt hipertansif ratlarda bosentan tedavisi kardiyak hipertrofiyi engellememiştir. Bunlarda kardiyak endotelin artmış olduğu halde dağılımı koroner arterler ve endokardiyum ile sınırlıdır (35).

Spontan hipertansif ratlarda DOCA-salt hipertansif ratların tersine bosentanın kronik olarak kullanımı kan basıncı ve vasküler hipertrofiyi azaltmamıştır. Çünkü ET-1'in damarlarda aşırı ekspresyonu yoktur. Bosentan tedavisinden sonra malign hipertansif ratlarda renal vasküler ve glomerüller ET-1 aşırı ekspresyonu ile böbreklerde koruyucu bir etki oluşmaktadır (36). Bosentan tedavisi ile serebral arteriollerdeki vasküler hipertrofi azalmıştır (37). İnsanlarda esansiyel hipertansiyonda endotelinin rolü hakkında bir bilgi yoktur. Yapılan bir çok çalışmada plazma endotelin seviyeleri artmamıştır. Hipertansif hastalarda endotelin reseptör antagonisti kullanımına karşı yanıt alınmamıştır.

2.1.1.2.3 Reaktif Oksijen Türleri

Endotel hücreleri shear stres ve bradikinin gibi endoteliyal agonistlere yanıt olarak oksijenden türeyen serbest radikaller ve hidrojen peroksit salgılar. Süperoksit anyonları NO aktivitesi ve endotel fonksiyonu için major belirleyicidir. Süperoksit anyonları NO'yu inaktive eder. Bu durum arterlerde vazokonstriksiyon ile sonuçlanır. Reaktif oksijen türleri (ROS) ayrıca damar düz kaslarında sitozolik Ca^{+2} mobilizasyonunu da uyarır. Kasıcı elemanların Ca^{+2} 'a duyarlılığını uyarır. Endotel kaynaklı süperoksit anyonu NO'nun kimyasal olarak antagonistidir (20).

Vasküler dokularda oksijenden türeyen serbest radikallerin yapımı ve birikmesi mitokondriyal oksidatif metabolizma sonucu oluşur. Çeşitli başka enzimler de NADH, NADPH oksidasyonu sonucu süperoksit anyonunu artırabilir. Sitokrom P-450 redüktaz ve sikloksijenaz okside lipid peroksitleri ve süperoksit anyonlarını oluşturur.

Süperoksit, süperoksit dismutaz (SOD) tarafından peroksitlere çevrilir. Dismutasyon reaksiyonunun ürünü hidrojen peroksittir. Katalaz ve glutatyon peroksitaz tarafından parçalanır.

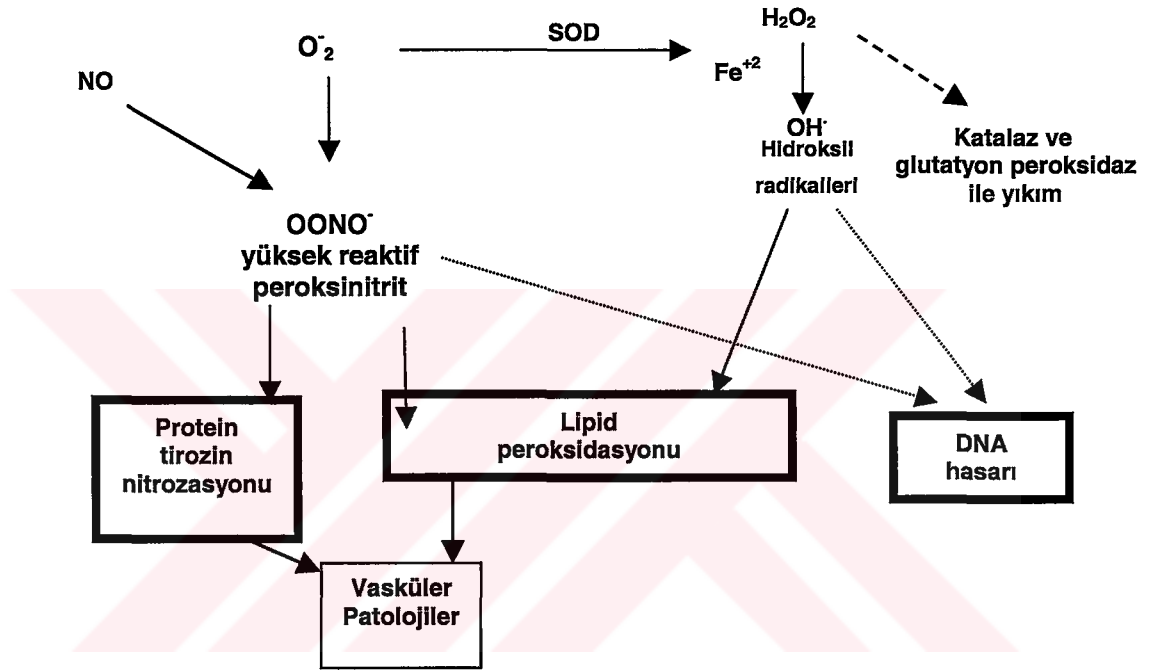
SOD aktivitesi 3 protein ailesi tarafından katalize edilir;

1. Sitozolik SOD'un Cu^{+2} ve Zn^{+2} atomu taşıyan bir merkezi vardır ve antioksidan mekanizmada önem taşır.
2. Ekstrasellüler SOD'un ikinci formu Cu^{+2}/Zn^{+2} 'u enzimin sekrete edilen formu olup tüm hücrelerin yüzeyinde heparin sulfat ve heparine bağlanarak bulunur.
3. Mitokondriyal SOD'da Mn SOD'dur. Sitokinler ile indüklenir. Mitokondriyal solunum zincirindeki süperoksit radikallere etkilidir (20).

Normal tavşan aortasında SOD aktivitesinin çoğu Cu^{+2}/Zn^{+2} SOD tipidir. Antioksidan mekanizmada çok önem taşır. Bu nedenle bazal şartlarda tavşan aortasında hemen hemen tüm süperoksitler SOD ile temizlenir. Süperoksit anyonu tespit edilemez.

Süperoksid Anyonu ve NO Etkileşimi

NO'nun süperoksid anyonu ile etkileşmeye eğilimi vardır. Süperoksid fizyolojik tamponlarda NO yarı ömrünü kısaltır. NO ve süperoksid arasındaki reaksiyon ile oluşan peroksinitritler, lipid peroksidasyonu ve protein tirozin nitrozasyonu yapıp vasküler hastalıklara neden olur. Eğer NO yoksa süperoksid hidrojen perokside döner. Redükte Fe^{+2} ile hidroksil radikallerini oluşturur. Lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına neden olur.



Şekil 4: Süperoksid anyonu ve NO etkileşimi. Süperoksid anyonu NO ile reaksiyona girerek yüksek reaktivite gösteren peroksinitritlere veya süperoksid dismutaz (SOD) ile hidrojen perokside (H_2O_2) çevrilir. H_2O_2 daha ileri reaksiyonlara girerek hidroksil radikallerine ($OH^\bullet$) dönüşür. Peroksinitrit ve hidroksil radikali bir çok hücrel hasarlanmadan sorumludur.

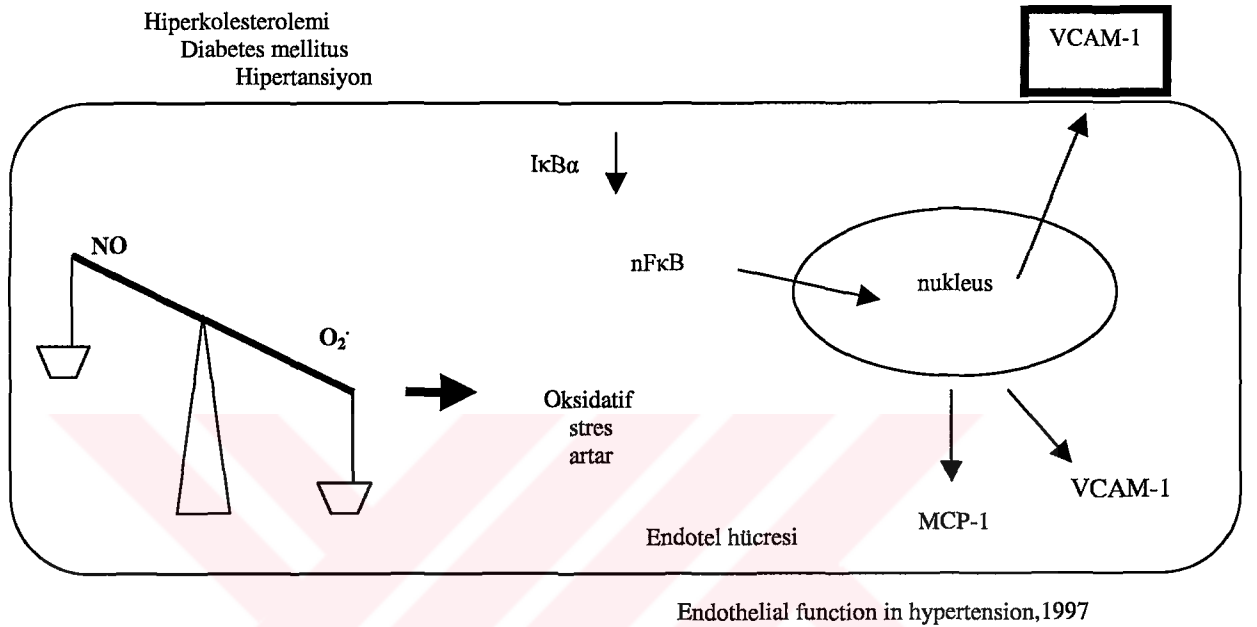
Süperoksid anyonu arttığı zaman (çöpçü reseptörler tarafından ortamdan uzaklaştırılamaması yada fazla süperoksid anyonu yapılması sonucu) oluşan ROS'lar doku hasarı ve endotel disfonksiyonuna neden olur.

Süperoksid Anyonu, Araşidonik Asid ve Vazoaktif Eikozanoidler

Endotel hücreleri aktive olunca Ca^{+2} hem NOS hem de fosfolipaz A_2 'yi aktive eder. Böylece membran fosfolipidlerinden araşidonik asid açığa çıkar. Araşidonik asidin bir kısmı vazoaktif olan eikozanoidlere metabolize olur.

PGH₂'nin dışarıdan tavşan aortasına verilmesi sonucunda endotele bağımlı vazodilatasyonun güçlü bir şekilde inhibe olduğu, bu inhibisyonun sadece süperoksid anyonuna bağlı olduğu tespit edilmiştir.

Hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diabetes mellitus gibi hastalıklarda süperoksid anyonunun yapımı da artabilir.



Şekil 5: Hiperkolesterolemi, diabetes mellitus ve hipertansiyon gibi hastalıklarda oksijen kaynaklı serbest radikaller sentezlenir ve NO aktivitesinde azalma olur. Süperoksid anyonu ve NO arasındaki dengesizlik oksidatif streste artmaya neden olur. Oksidatif stres nükleer faktör kappa B'yi (nFκB) inhibe eder. nFκB nukleusa diffüzyonla geçer ve nFκB aracılı VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü) ve MCP-1 (monosit kemotaktik protein-1) gen transkripsiyonu inhibe olur.

2.1.1.2.4 Anjiotensin II

Diğer önemli bir güçlü vazokonstrüktördür. Oluşumu için anjiotensin converting enzimin (ACE) önemi vardır. ACE ile anjiotensin I anjiotensin II'ye çevrilir. Anjiotensin II endotel hücrelerinde AT1 reseptörlerine bağlanarak fosfolipaz c aktivasyonu yapar. Böylece vazokonstrüksiyon oluşur. Prostaglandinler ve NO artar. Anjiotensinin direkt vazokonstrüktör etkisini azaltır. Ayrıca bradikinin aracılığı ile AT2 reseptörü ve AT(1-7) reseptörüne bağlanarak vazorelaksasyon yapar.

Anjiotensin II damar düz kas hücrelerinde AT1 reseptörlerine bağlanarak fosfolipaz c aktivasyonu yapar. Böylece intrasellüler Ca²⁺ mobilizasyonu ile vazokonstrüksiyon meydana gelir. Fosfolipaz c aktivasyonu ile protein kinazlar aktive olur. DNA sentezi artarak damar düz kas proliferasyonu ve hipertrofisi olur.

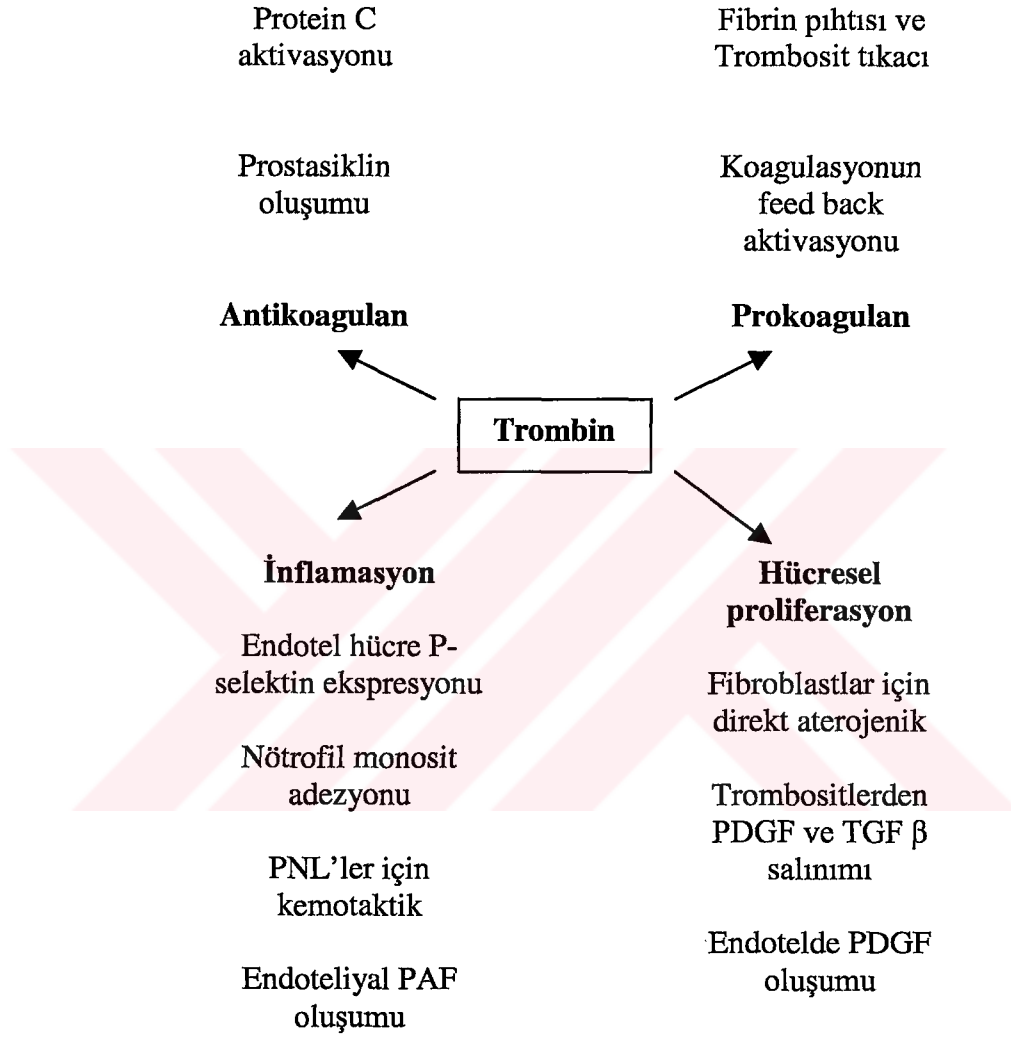
Anjiotensin II damar düz kas hücrelerinde katekolaminlere yanıtı artırır, süperoksit anyon yapımını artırır, NO yapımını azaltır. ET-1 sekresyonunu artırır. Ayrıca anjiotensin II PDGF, basic fibroblast GF, insülin like GF, heparin binding epidermal GF ve transforming GF β 1 (vasküler düz kas proliferasyon modülatörü) sentez ve salınımını uyarır.

2.1.2 Endotel Disfonksiyonu ve Koagulasyon Göstergeleri

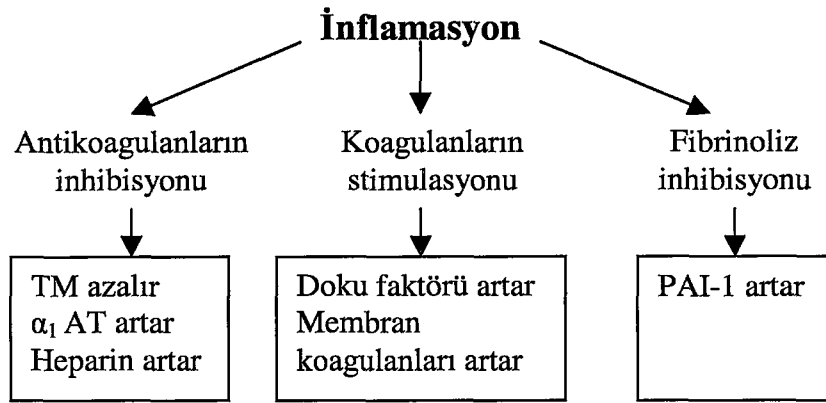
Endotel tabakası trombosit fonksiyonunu, plazma koagulasyonunu ve fibrinolizizi etkiler. Endotelin fizyolojik olarak önemli fonksiyonu antitrombotik bir yüzey oluşturmak ve böylece trombositlerin adezyonunu ve pıhtılaşmayı önlemektir. Bu negatif yüklü proteoglikan tabaka trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve plazma koagulasyonu inhibisyonu sağlar (38).

Eğer endotelde hasar oluşturan bir olay olursa endotel hücrelerinin koagulasyondan koruyucu etkileri azalır. Protrombotik bir yüzeye dönüşür. Endotel hücre üzerine prokoagulan etki yapan faktörler ROS, okside lipidler, shear stres, inflamasyon, yaş ve hormonlardır. Endotel hücresi bu faktörlere karşı vasküler homeostazı korumaya çalışır (39).

Koagulasyon sadece tromboz ile sonuçlanmaz, aynı zamanda inflamasyon ve hücrel büyümeyi uyarır. Trombin koagulasyonu koagulasyon karşıtı mekanizmaları, hücre proliferasyonunu veya inflamasyonu tetikler. İnflamasyon ve koagulasyon arasında moleküler boyutta oldukça sıkı bir ilişki vardır. İnflamasyon intravasküler doku faktörünün ekspresyonunu artırarak damar endotelinde lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonuna neden olur. Fibrinolitik aktivite ve protein C antikoagulan yolu down regüle olur. Trombin endotelial hasar olan durumlarda antiinflamatuvar yanıtı destekler. Bu şekilde inflamasyon ve koagulasyon arasında bir kısır döngü oluşur. İnflamasyon koagulasyonu artırır, antikoagulan yanıtları inhibe eder ve fibrinolitik kaskadı down regule eder (40).



Şekil 6: Trombinin çeşitli fonksiyonları. PDGF: trombosit kaynaklı büyüme faktörü, TGF β : transforme edici büyüme faktörü β .



Şekil 7: İnflamatuvar mediyatörler ile koagülasyonun düzenlenmesi

Endotel hücrelerinde protrombotik ve antitrombotik maddeler yapılıp salgılanır.

2.1.2.1 Vasküler Endotelden Salınan Antikoagulan Faktörler

- Protein C (PC)
- Trombomodulin (TM)
- Prostasiklin (PGI₂)
- Antitrombin III (AT-III)
- Protein S (PS)
- Nitrik oksid (NO)
- Ekstremsel sistem inhibitörü (TFPI, Tissue Factor Pathway Inhibitor)
- Heparan proteoglikanlar
- Doku plazminojen aktivatörü (t-PA)
- Ürokinaz (u-PA)

2.1.2.1.1 Protein C (PC) Antikoagulan Yolu

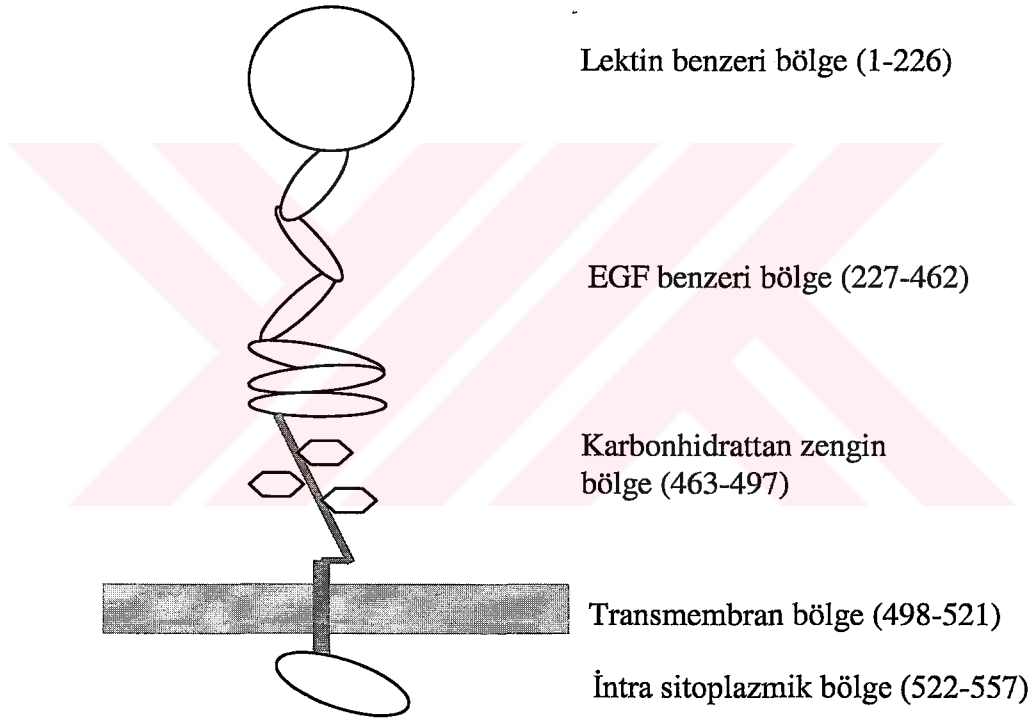
Protein C (PC) antikoagulan yolu tromboza karşı doğal bir savunma mekanizması olup tromboz oluşumunda esas düzenleyici görevi üstlenir. Trombinin (T) trombomoduline (TM) bağlanması ile başlar. Bu bağlanma damar endoteli üzerinde olur. T-TM kompleksi plazma zimojeni olan PC'yi aktive eder. PC aktivasyonu endotel hücre PC reseptörü (EPCR) aracılığı ile artar. Aktive protein C (APC) ve PC EPCR'ye hemen hemen eşit afinite ile bağlanır. APC-EPCR kompleksi antikoagulan etkilerin oluşmasından sorumludur. APC ve

EPCR birbirinden ayrılınca APC endotel üzerinde bulunan protein S (PS) ile etkileşime girer. PS faktör Va ve faktör VIIIa'yı inaktive eder (40, 41).

2.1.2.1.2 Trombomodulin (TM)

Trombomodulin (TM) transmembran bir glikoprotein olup en önemli görevi intravasküler koagülasyonun düzenlenmesidir (42).

TM endotel hücre reseptörüdür ve doğal antikoagulan sistemin önemli bir kofaktörüdür. Yüksek afinite ile en önemli prokoagulan enzim olan trombine bağlanır. Trombinin substrat spesifitesini değiştirir. Protein C aktive olur. Protein S varlığında APC faktör VIIIa ve FXa'yı inaktive eder. Trombinin ileri oluşumu engellenmiş olur (43, 44).



Şekil 8: Trombomodulin

TM'in Yapısı

Trombomodulinin yapısı incelenirken antikoagulan bazı bölgelere sahip olduğu bulunmuştur. TM mattır tek zincirli bir glikoprotein olup 557 amino asid rezidüsü ve N-, O-bağlı karbonhidrat bölgesi içerdiği gözlenmiştir.

Amino asid zinciri yapısal olarak 5 parçaya ayrılır (44):

- a) Lektin benzeri bölge (1-226 rezidü): 1-154 rezidü içeren bölge karaciğerdeki asialoglukoprotein reseptör, IgE'nin lektin bölgelerine ve selektin ailesinin elemanlarına benzer. 155-226 rezidüler plazma membranından geçen hidrofobik bir bölge oluşturur. O-bağlı glikozilasyon için iki güçlü bölge içerir.
- b) Epidermal büyüme faktörü (EGF) benzeri bölge
- c) Serin, treonin ve O-glikozilasyondan zengin bölge
- d) Transmembran parça
- e) Kısa sitoplazmik kuyruk

EGF Benzeri Bölgeler

EGF benzeri bölgede 6 adet EGF benzeri parça bulunur. Bunlar birbirlerine ara peptidler ile bağlanır. EGF1-(227-262), EGF2-(270-305), EGF3-(311-344), EGF4-(351-386), EGF5-(390-407), EGF6-(427-462).

Protein C aktivasyonu TM EGF5 ve EGF6 bölgelerinin trombine bağlanması ile düzenlenir. Fakat sadece TM'in trombine bağlanması yeterli değildir. EGF4 ve EGF3'de yardımcı olur. EGF5 ve EGF6'nın birleşme yerindeki metiyonin 388 protein C aktivasyonunda etkin bir görev alır. Metiyonin 388'in oksidasyonu ile protein C aktivasyonunda %90 azalma olur. Metiyonin yerine lösin gelirse etkisi 2 kat artar. EGF4'teki glutamin-357, tirozin-358, fenilalanin-376 eğer alanin ile yer değiştirirse protein C aktivasyonunda TM'nin etkisi azalır (45).

TM'in iki tipi vardır:

- 1) Doku TM'i: Arterler venler ve kapillerlerin lümenini döşeyen endotel hücrelerinde molekülün karboksi ucundan bağlı olarak bulunur (41).
- 2) Solubl TM: Kanda ve idrarda bulunur. Vasküler endotel hücrelerinden salınır. Fizyolojik metabolizma sonucu kan ve idrarda çok az miktarda bulunur.

Solubl TM'nin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir fakat endotel hücre hasarının bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Endoteliyal hasar gelişirse endotel hücrelerinden salınım sonucu kan ve idrarda solubl trombomodulin konsantrasyonu yükselir (46).

TM'in Fonksiyonu

- TM'in antikoagulan fonksiyonu:
 - Trombini bağlama
 - Protein C aktivasyonunda kofaktör
 - ATIII aracılı trombin inhibisyonunda kofaktör

TM'in trombine bağlanmasıyla trombinin substrat spesifitesi bozulur. Fibrinojenin fibrine dönüşümü, faktör 5, 8, 13 aktivasyonu belirgin şekilde etkilenir. Aynı zamanda Ca^{+2} iyonlarının varlığında TM protein C aktivasyonunda kofaktör görevi görür. Aktive protein C protein S ile birlikte F5a ve F8a'yı inaktive eder. Bu şekilde trombin oluşumu inhibe olur. TM'in trombine bağlanması aktif-inaktif trombin arasında şartel görevi görür.

Serbest trombin fibrinojene bağlanarak protein C'yi az da olsa aktive eder. Fakat TM-T kompleksi protein C aktivasyonunu ve çok az fibrinojenden fibrin oluşumunu sağlar (44).

- Trombinin antitrombotik fonksiyonu:

TM-protein C sisteminin antitrombotik etkileri tromboembolik hastalıkların önlenmesinde çok önemlidir. Protein C ve protein S eksikliği olan kişilerde tromboembolik hastalıklar meydana gelir. Tromboemboli gelişen hastalarda TM'de nokta mutasyonu saptanır. Solubl TM venöz trombozdan korunma sağlar (44).

TM'in normal embriyonik gelişim sırasında gerekli olduğu görülmüştür. TM eksikliği olan farelerde kardiyovasküler sistem gelişmeden önce embriyonik ölüm gerçekleşmiştir.

- Trombin inhibisyon fonksiyonu:

Kondroitin sulfatın TM'e bağlanması ile TM'in fonksiyonları etkilenir. Kondroitin sulfat ATIII ile trombin inhibisyonunda görev alır. Kondroitin sulfat içermeyen TM'in trombin-ATIII kompleks oluşumunda hiçbir etkisi yoktur. Kondroitin sulfat bulunması solubl TM'in trombine affinitesini artırır. Önce trombin TM'in EGF5 ve EGF6 bölgelerine bağlanır. Sonra kondroitin sulfata zayıf bağlantılar yapar (44).

TM ve Vasküler Hastalık

Solubl TM'in endotel hasar göstergesi olduğu bulunduktan sonra endotel hasarının rol oynadığı ateroskleroz, koroner kalp hastalığı ve bunun gibi durumlarda serum konsantrasyonları önem kazanmıştır.

Yapılan çalışmalarda bulunan değerler çelişkilidir. Diabetik kişilerde diabetik olmayanlara göre solubl TM konsantrasyonları daha yüksek bulunmuştur. Diabetik olup mikrovasküler komplikasyon gelişen kişilerde düzeyler daha da yüksek ölçülmüştür (47).

Oksidatif stres endotel hücre hasarı ve vasküler disfonksiyona çeşitli mekanizmalar ile neden olur. Oksidatif stres nedeniyle ileri glikasyon son-ürünleri ve nükleer faktör κ B (NF κ B) aktivasyonu meydana gelir. Oksidatif stresi gösteren bu markırlar ile birlikte endotel hasar göstergesi olan TM diabetes mellitusta birlikte yükselebilir (48).

TM'in bozulmuş ekspresyonu ve azalmış TM fonksiyonu miyokard infarktüsü gelişim riskine katkıda bulunur (49).

2.1.2.2 Vasküler Endotelden Salınan Prokoagulan Faktörler

- Tromboksan A₂ (TxA₂)
- Faktör VIII (von Willebrand)
- Doku faktörü (TF)
- Trombin (T)
- Endotelin (ET)
- Plazminojen aktivatör inhibitör (PAI)
- Trombosit aktive edici faktör (PAF)

2.1.2.2.1 Prostaglandin I₂ (PGI₂) ve Tromboksan A₂ (TxA₂)

ROS'a karşı PGI₂ ve TxA₂ yapımı endotelin koruyucu fonksiyonunun azalmasına neden olur. PGI₂ ve TxA₂ oranı endotel intakt iken oluşan oksidatif stres durumlarında 100 civarındadır. Fakat tekrarlayan etkiler, koroner by pass, reperfüzyon, oksidatif stres ve artmış lipid peroksidasyonu sonucu 4-5'e kadar düşer. Bu oran TxA₂ artışının incelenmesinden daha yararlıdır. Postoperatif ilk 2 günde oluşan tromboembolik komplikasyonların açıklanmasında yararlıdır. PGI₂ yapımını diğer etkileyen bir olay da kadın cinsiyet hormonlarıdır. İn vitro çalışmalarda 17 α -etinil östradiol verilmesi (oral kontraseptif) PGI₂ yapımı ve salınımını azaltır (20).

2.1.2.2.2 Faktör 8 – von Willebrand Faktör (F8-vWF)

Trombositlerin subendoteliyal yapılara adezyonundan sorumludur. F8-vWF endotel hücrelerinden salgınır. Salınımı endotel hücre hasarı ve trombin aracılığı ile olur. F8-vWF artışı hem kronik kalp hastalarında hemde kalp transplant hastalarında görülür. Her iki hastalık da endotel disfonksiyonu ile ilgilidir. Bu durumda F8-vWF endotel disfonksiyonunun çok ağır olduğu bazı hastalıklarda markır olarak kullanılabilir.

Örneğin Tip II DM'da F8-vWF albuminürinin ilerlemesi ile artar. Bu da hastalığın oluşturduğu kardiovasküler hastalıkların morbidite ve mortalitesinin güçlü prognostik göstergesidir. Periferik damar hastalığı olan kişilerde F8-vWF yüksektir (50,51).

2.1.2.2.3 Doku Faktörü

Endotel tarafından stimüle edilen doku faktörü trombüs oluşumunun önemli başlatıcılarından. Stimüle olmamış HUVEC (insan umbilikal ven endotel hücreleri)'de doku faktörü antijeni azdır.

HUVEC lipopolisakkarid, IL-1 β ile stimüle edildiğinde doku faktörü antijeni artar. Stimüle olmamış HUVEC nontrombojeniktir. Stimüle edilince masif fibrin, trombosit depolanması tespit edilmiştir.

2.1.3 Endotel Disfonksiyonu ve Fibrinolitik Aktivite

Endotel hücreleri bir kaç yönden fibrinolizi etkiler:

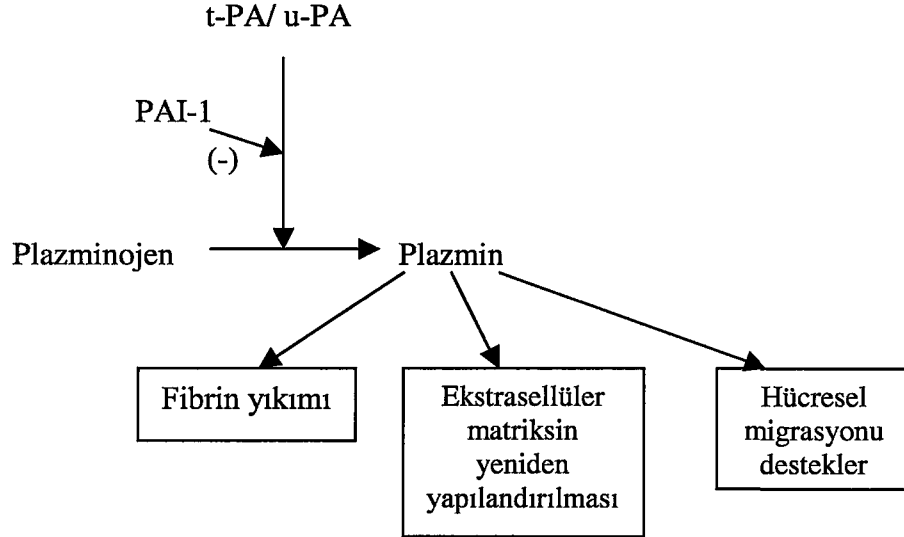
A. Fibrinolitik ve fibrinoliz inhibitörü faktörler sentezler.

- Doku plazminojen aktivatörü (t-PA)
- Plazminojen aktivatör inhibitör -1 (PAI-1)
- Ürokinaz

B. Membran reseptörleri ile fibrinolitik faktörleri bağlar.

Temel koagülasyon reaksiyonları intrinsek ve ekstrinsek yollardır. (-) yüklü damar yüzeyi ile FXII'nin temas etmesi ve bu şekilde FXII aktivasyonu (FXIIa) intrinsek sistemi aktive eder. Ekstrinsek koagülasyon sistem doku hasarında doku faktörü (tF) salınımı ve FVII aktivasyonu (FVIIa) ile başlar. Protrombinaz enzim kompleksi aracılığı ile trombin oluşur. Oluşan trombin fibrinojeni aktifler. Fibrinopeptid salınımı, solubl fibrin oluşumu ve FXIIIa aracılı insolubl fibrin oluşumuna neden olur. Fibrinoliz t-PA ve u-PA ve plazminle başlar. Plazmin fibrin yüzeyine bağlanır. Fibrin degradasyon ürünleri oluşur. Ekstrasellüler matriksi düzenler, hücrel migrasyonu tetikler.

Fibrinolitik sistem bir proenzim olan plazminojen, plazminojen aktivatör enzimler, plazminojen aktivasyonunu regule eden inhibitörler ve fibrinin degradasyonunu içerir. Fibrinolitik sisteme plazminojen aktivatör sistem de denir (52).



Şekil 9: Fibrinolitik sistemin önemli elemanları

2.1.3.1 Doku Plasminojen Aktivatörü (t-PA)

Plazmadaki aktivatörlerin önde gelenidir. Endotel hücrelerinde sentezlenen endojen fibrinolitik aktivitesi olan bir faktördür. Plazma yarı ömrü ortalama 2-3 dakikadır.

t-PA'nın Yapısı ve Fonksiyonu

68 kD ağırlığında bir serin proteazdır. Tek zincirli olarak endotel hücrelerinde sentezlenir ve salınır (53).

t-PA beş parçadan oluşur:

- 1) Fibrinolektinin parmaksı yapısı ile aynı olan N-terminali
- 2) EGF ile aynı olan parça
- 3) 2 adet plazminojendeki kıvrımlı bölgeye benzeyen parça
- 4) Tripsin benzeri proteaz ile aynı olan C-terminali

Aktif bölge His 322, Asp 371 ve Ser 478 içerir. Parmaksı yapı ve kıvrımlı olan bölgeler fibrin bağlayan bölge içerir. t-PA'ya PAI-1'in bağlanması esas olarak t-PA'daki aktif bölge, 296-304 rezidü ve kıvrımlı bölgeler aracılığı ile olur.

Plazmin oluşumu t-PA ve plazminojene seçici bir bağlanma yüzeyi oluşturan fibrin tarafından hızlandırılır. Bağlanma gerçekleştikten sonra t-PA'nın aktif merkezini ortaya çıkaran bir takım yapısal değişiklikler meydana gelir. Bu olay pozitif feed-back mekanizma olup fibrinolizizi hızlandırır.

Plazmin, kallikrein ve F10a Arj 275-Lys 276 peptid bağını parçalayarak t-PA'nın iki zincirli tipini meydana getirirler. İkiye ayrılma ile sentetik kromojenik substratlar ve inhibitörlere karşı t-PA'nın aktivitesi artar.

Ortamda fibrin yoksa t-PA'nın çift zincirli formu plazminojen aktivasyonuna neden olur. t-PA ise plazminojeni çok yavaş bir hızla aktive eder. Fibrin varlığında t-PA'nın her iki formu da plazminojeni aynı hızda aktive eder. Eğer ortamda fibrin varsa hem t-PA hem plazminojen fibrine bağlanır. Oluşan 3'lü kompleks t-PA'nın katalitik etkisini 1000 kat artırır.

Plazminojenin t-PA ile aktivasyonu sadece fibrin tarafından yapılmaz. Plazminojen aktivasyonu yapan diğer maddeler hücre membranı ve ekstrasellüler matriks proteini olan trombosponin ve kollojen IV'tür (53).

t-PA Salınımı

Fizyolojik olarak normal koşullarda damar endotelinden düşük dozda t-PA salınımı olur. Eğer trombosit aktivasyonu ve koagülasyon kaskad aktivasyonu olursa endotelial depolardan t-PA hızlı ve masif olarak salınır.

Uyarılmış t-PA sekresyonu koagülasyonu, plak ruptürünü ve tıkaç oluşumunu önlemeye çalışır. Eğer akut t-PA salınımı kapasitesi defektif ise spontan tromboliz azalır.

t-PA ve Kardiyovasküler Hastalık

Plazmada t-PA konsantrasyonu, PAI-1 ve diğer proteazlara göre daha düşük düzeydedir. Bu nedenle aktivitesinin tam olarak ölçümü çok zordur. Yüksek plazma t-PA antijen düzeyleri, kardiyovasküler hastalık riski ile birlikte bulunmuştur. t-PA antijeni ve PAI-1 aktivitesi arasında pozitif korelasyon, t-PA antijeni ve t-PA aktivitesi arasında negatif korelasyon vardır (53).

Aktif t-PA'nın plazma klirensi t-PA/PAI-1 kompleksinin klirensinden daha hızlı olur. Aktif PAI-1'in yüksek düzeyleri daha fazla t-PA'yı t-PA/PAI-1 kompleksinin içine alır. Böylece total t-PA antijen klirensi etkin bir şekilde yavaşlar. Bu durum yüksek PAI-1 aktivite düzeylerinin yüksek total t-PA antijenleri ile birlikteliğini açıklar (54).

t-PA ve Hipertansiyon

Esansiyel hipertansiyonlu kişilerde koroner arter trombozu oluşumu riski antihipertansif tedavi ile tamamen ortadan kaldırılamaz. Bu durum hipertansiyonda damar duvarının antitrombotik özelliklerinde bir patoloji olduğunu düşündürür.

Esansiyel hipertansiyonu olan ve diğer yönlerden sağlıklı kişilerde endotel hücrelerinden stimüle t-PA salınımında bozukluk tespit edilmiştir. Esansiyel hipertansiyonda endotel hücrelerinde meydana gelen fonksiyon bozukluğu aterotrombotik olaylara karşı savunmada azalmaya neden olur (55).

2.1.3.2 Plazminojen Aktivatör İnhibitörleri (PAI-1)

Bu gruptaki serin proteaz inhibitörleri olup serpinler ailesine ait 4 farklı protein içerir. Bunlar PAI-1,2,3,4'tür. Normalde kan t-PA ve u-PA PAI-1 ile inhibe edilir (53). PAI-2 plasenta, monosit ve makrofajlar tarafından sentezlenen yüksek hızlı u-PA'yı inhibe eder. Kanda PAI-2 bulunmaz. Bazı hastalıklarda kanda artar. Daha sonraları bulunan PAI-3 protein C'yi, proteaz neksin-1'i inhibe eder (53, 56). Plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1) dolaşımdaki en önemli fibrinoliz inhibitörüdür (57).

PAI-1 Yapısı

Serpin süperailesine ait 48 kD molekül ağırlığında 379 aminoasidlik tek zincirli bir glikoproteindir. Yapısında sistein amino asitleri bulunmaz. Yapısında bol miktarda metiyonin bulunması nedeniyle PAI-1 okside edici ajanlar ile geri dönüşümsüz olarak inaktive edilmeye eğilimlidir (57).

Plazma ve diğer vücut sıvılarında PAI-1 aktif ve latent olmak üzere iki formda bulunur. Sistein rezidülerinin yapıda yer almaması aktif PAI-1'in çözeltiye biyolojik instabilite göstermesine neden olur. Böylece inaktif 'latent' forma döner. Bu tipte, aktif merkez proteinin içine gömülüdür (57). Aktif yapıda ise reaktif merkez PAI-1'in yüzeyinde yerleşir. Plazmada aktif form spontan olarak latent forma döner. Latent PAI-1'in in vivo aktivasyon mekanizması bilinmemektedir. Fakat aktivasyonda fosfotidilserin ve fosfotidil inozitol rol alır. Damar hasarının olduğu bölgelerde aktif trombositler ve hasarlı hücre membranları latent PAI-1'i aktive edebilirler. Bu durum trombüsün proteolitik stabilitesini artırır. Aktif PAI-1 esas olarak vitronektin ile etkileşime girer. Birlikte oluşturdukları kompleks ile PAI-1'in etkisi artar. PAI-1'in aktif olarak kalması sağlanır. Vitronektinin hücre reseptörlerine bağlanması azalır. Vitronektin aktif PAI-1'in dolaşımında ve dokulardaki kofaktörü olabilir (58). Aktivasyon sonucu trombositlerden PAI-1 salgılanarak trombüs olan bölgelere göç eder. Trombositler bu şekilde fibrin yapısını proteolizden korumaya çalışır (53).

PAI-1 Sentezi

Başlıca endotel hücrelerinde sentezlenir. t-PA'ya hızlı bağlanır. PAI-1 ve t-PA oranı 1:1 olan stabil bir kompleks oluşur. PAI-1'in aktif formu anstabil olup yarı ömrü 8-10 dakikadır. Bu nedenle plazma konsantrasyonları düşüktür. Aktif PAI-1 vasküler endotel hücrelerinde olduğu gibi trombositlerde de sentezlenir. Trombin hem trombositleri hem de endotel hücrelerini stimüle eder ve PAI-1 salınımını sağlar. PAI-1'in diğer sentez bölgeleri damar düz kas hücreleri, makrofajlar, karaciğer, dalak ve adipoz dokudur (53).

PAI-1 biyosentezi bir çok bileşik tarafından etkilenir. Bunlar, insulin, sitokinler (IL-1), transforme edici büyüme faktörü β , trombin, aterojenik lipoproteinler, anjiotensin 2, tümör nekroz edici faktör ve fibroblast büyüme faktörüdür (53,57).

PAI-1 vücutta en fazla trombosit ve plazmada bulunur. Dolaşımdan karaciğer hücreleri aracılığı ile temizlenir (57).

PAI-1 düzeyleri sirkadien değişikliklerden etkilenebilir;

1. Mevsimsel etkiler: Kışın en yüksek, yazın en düşük düzeylerde bulunur.
2. Diurnal etkiler: Sabah erken saatlerde en yüksek, akşamları en düşük düzeylerde bulunur.

PAI-1'in sabah birkaç saatliğine yüksek düzeylerde olması ateromatöz plak rüptürünün olduğu yerde trombotik oklüzyona neden olur. Böylece akut miyokard enfarktüsü, ani kardiyak ölüm, iskemik strok gibi durumlar meydana gelir (57).

Fibrinolitik sistemin diğer üyelerine göre PAI-1 plazma seviyeleri daha yüksek seviyede değişiklik gösterir. Bu özelliği nedeni ile diğer fibrinolitik sistem elemanlarına göre daha iyi bir göstergedir. Promoter insan PAI-1 cDNA'sına eklenmiş transgenik farelerde PAI-1 ekspresyonu ile tromboz arasında direkt ilişki bulunmuştur. PAI-1 sentez ve salınımı arttığında bu farelerde venöz tromboz gelişmiş, azaldığında ise tromboz da azalmıştır (57).

PAI-1 ve Vasküler Hastalık

Damar duvarında devamlı oluşan fibrin depositleri fibrinolitik sistem aktivasyonu ile dengelenir. Damarsal hastalıklarda bu sistemde meydana gelen bozukluklar patogeneizde rol oynar. Plazma PAI-1 konsantrasyonlarına bağlı fibrinolizde azalma fibrin depositlerinde artma ve trombüs oluşumuna neden olmaktadır. Yüksek PAI-1 konsantrasyonları bir çok trombotik hastalık ile ilişkili bulunmuştur (59, 60).

Tip II DM'da fibrinolizde supresyon olur. PAI-1 konsantrasyonları artar. Diğer trombotik risk faktörleri F7, vWF ve fibrinojen insulin rezistansı ile ilişkili bulunmuştur. Hem glukoz hem de insulin artışının PAI-1 sentez ve sekresyonu ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (61).

PAI-1'in fibrinolizi inhibe etme etkisi olduğu düşünüldüğünde artmış plazma PAI-1 düzeyleri akut koroner sendrom için önemli bir risk faktörüdür. İnsulin rezistansında artmış plazma insulin düzeylerinin PAI-1 ekspresyonunu indüklediği gözlenmiştir. Böylece kardiyovasküler hastalık ve Tip II DM arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir (62).

2.1.4 Endotel Disfonksiyonu ve İmmün Yanıt Göstergeleri

Son zamanlarda keşfedilen çeşitli glikoproteinler hücreler arası ilişkilerde önem kazanmıştır. Normal homeostaz, immün sistemin kontrolü ve damar duvar bütünlüğünün sağlanmasında önemlidirler. Hücre adezyon moleküllerinin kan hücreleri (lökositler, trombositler) ile endotel hücreleri etkileşimlerine aracılık ettiği bilinmektedir. Bu etkileşimler mikrovasküler yatağın tüm segmentlerinde bazı fizyolojik (örneğin homeostasis) ve bazı patolojik koşullarda (örneğin, inflamasyon) meydana gelir. Selektin'ler, düşük affiniteli lökosit-endotel hücresi etkileşimine aracılık ederler. Bu kendini lökositlerin rulo yapması (birikmesi) şeklinde gösterir. Bu geçici bağlanma lökositlerin aktivasyonu ile sonuçlanır ve lökositler adezyon ve transendoteliyal migrasyona uğrar. Bunlara integrin ile hücre adezyon moleküllerinin immunglobulin süperailisi arasındaki etkileşimler aracılık eder. Hücre adezyon moleküllerinin regüle ettiği lökosit kümeleşmesi, sıklıkla endotel disfonksiyonuyla sonuçlanır. Bu da arteriollerde endotele bağımlı vazorelaksasyon, kapillerlerde aşırı sıvı filtrasyonu ve venüllerde proteinin damar dışına çıkışının hızlanması şeklinde sonuçlanır (6). Sonuç olarak hücre adezyon moleküllerinin hızlanmış ekspresyonu, çeşitli damar hastalıklarında (örneğin iskemi, reperfüzyon, ateroskleroz, allograft disfonksiyonu, vaskülit) ve kardiyovasküler hastalık için bazı risk faktörlerinde (hipertansiyon, hiperkolesterolemi, diyabet) uyarılır (63).

İmmün sistem aktivasyonu sırasında damar endotel hücreleri önemli rol oynar.

- T lenfositlere antijen sunulurken endotel hücreleri Class I ve II major histokompatibilite (MHC) molekülleri eksprese eder.
- Adezyon molekülleri ve IL-1 α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 gibi kemokinler sentezler.

Fizyolojik koşullar altında anti ve pro-inflamatuvar bir denge söz konusudur. İnflamatuvar sitokinler ve bakteriyel endotoksinler aracılığı ile bu denge bozulur. Endotel ve lökositler arasında çeşitli etkileşimler gerçekleşir (5).

Lökositlerin endotele bağlanması, çeşitli inflamatuvar ve immunolojik bozuklukların temelini oluşturur. Akut inflamasyonda polimorf nüveli lökositler, postkapiller venüllerde endotele bağlanır. Monositlerin endotele bağlanması dietle gelişen ateroskleroza özgüdür. Endotel hücre kültürlerinde lökositlerin endotele bağlanması hücre-hücre etkileşim mekanizmalarını gösterir. Yapılan çalışmalarda lökosit, endotel hücre veya her ikisinin aktivasyonu ile PNL, monosit veya lenfositlerin endotele adezyonunun arttığı bilinmektedir(5).

Günümüzde koroner kalp hastalığı gelişmesinde çeşitli risk faktörlerinin rol oynadığı bilinmektedir. Vasküler inflamasyon gelişiminde endoteliyal damar duvarına lökositlerin infiltrasyonu olur. Damar endotelinin dinamik organ olduğundan daha önce bahsedildi.

Antiadeziv ve antikoagulan özellikleri mevcuttur. Fakat endotelial hasar meydana gelince bu duruma yanıt olarak dengeler bozulur. Aktive olmuş lökositlerin transmigrasyonu gerçekleşir. Hücresel adezyon molekülleri proteinler ve çeşitli adeziv reseptörlerden oluşan bir sistemdir. Bu moleküller embriyogenez, hücresel büyüme, farklılaşma ve inflamatuvar süreçte yönlendirici rol oynar. Son 10 yılda adezyon moleküllerinin karmaşık olan görevlerini keşfetmede çok yol katedilmiştir.

Adezyon moleküllerinin bir çok tipi vardır ve dört ana grupta toplanmaktadır (64);

- İmmunglobulin süperailisi
- İntegrinler
- Selektinler
- Kadherinler

2.1.4.1 İmmunglobulin Süperailisi

Hücre yüzeyi adezyon moleküllerinin en geniş grubudur. Lökosit membran glikoproteinlerinin %50'sini oluşturur. Büyüme faktörleri, immunglobulinlerin F_c kısımları ve integrinler için reseptör olmak gibi çeşitli fonksiyonları vardır. İntersellüler adezyon molekülü (ICAM), vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM) ve platelet endotelial hücre adezyon molekülü (PECAM) bu gruba örnektir (64).

Lökositlerin endotele yapışması sonrası lökosit üzerindeki integrin ligandları ve Ig süperailisi üyelerinden ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, VCAM-1 sentez ve salınımı olur. VCAM-1(CD-106) ekspresyonu endotel hücreleri ile olur. Lökositlerin endotel hücrelerine adezyonundan sonra lökositler transendotelial migrasyon yaparlar. Bu olay PECAM-1 (CD-31) tarafından sağlanır. PECAM-1 endotel hücreleri, trombositler ve çeşitli lökositler tarafından eksprese edilir. Ateroskleroz gibi inflamatuvar bir olayda adezyon moleküllerinde artma olur. Yapılan bir çok çalışmada adezyon moleküllerinin endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz için markır olabileceği gösterilmiştir. Serum lipoproteinleri ve oksidatif stres dolaşımında bulunan adezyon molekülleri ile korelasyon göstermektedir. Dislipideminin de yüksek ICAM-1, VCAM-1 ve E-selektin ile seyrettiği gösterilmiştir (65, 66).

2.1.4.1.1 Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 (VCAM-1, CD106)

Dolaşımdaki lökositler dokulara vasküler endotel hücrelerin arasından geçerek ulaşırlar. Bu olaya migrasyon denilir. Migrasyon sırasında lökositler endotel hücrelerine düşük affiniteli

adezyon reseptörleri ile bağlanır. Kan akımı ve düşük affiniteli adezyon reseptörleri aracılığı ile lökositler endotel üzerinde ilerler ve endotel hücreleri üzerine yapışır.

Son olarak endotel hücrelerinin arasından dokulara geçerler. Lökositlerin endotel hücreleri üzerine bağlanmasını sağlayan adezyon moleküllerinden biri vasküler hücre adezyon molekülüdür (VCAM) (67).

VCAM-1'in Yapısı

VCAM-1 immunglobulin süperaillesinin bir üyesi olup lökositlerdeki $\alpha 4\beta 1$ -integrine bağlanır. Fare ve insanlarda VCAM-1'in iki formu vardır. İnsanlarda VCAM-1 bir transmembran proteini olup ya 7 adet immunglobulin benzeri domain ya da 1-3 ve 5-7 domainleri içerir. Domain 1 ve 4 ligand bağlayan domainlerdir (66).

VCAM-1'in Lokalizasyonu

VCAM-1 hem hastalık patogeneizlerinde hemde normal süreçlerde görev alır. VCAM-1 lenf nodlarının endotel hücrelerinde bulunur ve inflamatuvar bölgelerde artar. Aterosklerotik lezyonların erken dönemlerinde lezyon bölgesindeki endotel hücrelerinde VCAM-1 artar (68).

VCAM-1 Sinyal Transdüksiyonu

VCAM-1 endotel hücrelerindeki NADPH üzerinden sinyal iletimini sağlar. Lökositler üzerlerindeki α_4 integrinler sayesinde endotel hücrelerine yapışır. VCAM-1 endotel hücrelerindeki NADPH oksidazı aktive eder (69). Endotel hücre membranında NADPH oksidaz düşük seviyede ekstrasellüler ROS yapımını uyarır. Ekstrasellüler ROS lokal matriks metalloproteinazları uyarır. Metalloproteinazlar hem endotel hücreleri hem de lökositler üzerinde bulunur. H_2O_2 endotel membranlarından hücre içine girer ve fosfatazlar üzerinde etki oluşturur. Fosfatazlarda endotel hücresindeki aktin bağlayıcı proteinleri ve aktin yapısını etkiler (70). Ekstrasellüler matriksin metalloproteinazlar ile degradasyonu ve endotel hücresindeki aktin yapısının değişimi endotel hücrelerinde lökosit bağlanan bölgelerde retraksiyona neden olur. Bu şekilde endotel hücrelerinin arasından lökositler dokulara geçer. Endotel hücreleri lökositlerin migrasyonunda aktif bir rol oynar (66).

2.1.4.1.2 Trombosit Endotelial Hücre Adezyon Molekülü-1 (PECAM-1, CD31)

PECAM-1, CD31 ve endoCAM olarak da bilinen, 130 kD ağırlığında immunglobulin süperaillesinden bir moleküldür. Dolaşımdaki trombositler, monositler, nötrofiller ve bazı T lenfositlerin yüzeylerinde bulunur. Endotel hücreleri üzerinde bağlantıyı sağlayan en önemli

bileşendir. Endotel hücreleri arasındaki bölgelerde yaklaşık 10^6 kadar PECAM-1 molekülü bulunur.

PECAM-1 ilk olarak insan umbilikal ven endotel hücrelerinden klonlanmıştır. Fibroblast, epitel hücresi, kas ve diğer damarsal olmayan hücrelerin yüzeyinde bulunmaz (71, 72).

PECAM-1 Geni ve Protein Yapısı

PECAM-1 17. kromozomun uzun kolunun ucundaki gen tarafından kodlanır. İlk miyeloid differansiasyon antijeni olarak bulunmuştur. Endotel hücre plazma membranındaki trombosit GPII_a (integrin β_1 alt ünitesi) olarak saptanmıştır.

PECAM-1 temel olarak ekstrasellüler, transmembran ve intrasitoplazmik bölüm olmak üzere 3 kısımdan oluşur. Molekülün ekstrasellüler bölümü 574 aminoasitten oluşur ve Ig benzeri 6 homolog kısmı vardır. Ig süperaillesinin diğer elemanlarında da bu bölge aynıdır. Kısa bir transmembran bölümden sonra PECAM-1'in 118 amino asit içeren sitoplazmik bir parçası vardır. Sitoplazmik parça yapı ve fonksiyon bakımından karışık olup 8 ekzon tarafından kodlanır (71, 73).

PECAM-1'in Damar Hücrelerindeki Fonksiyonu

PECAM-1 özellikle endotel hücreleri üzerinde bulunan hücre-hücre adezyon molekülüdür. Ayrıca trombosit, monosit, nötrofil ve bazı dönemlerde T lenfositlerinin yüzeyinde bulunur. Endotel hücre kültürlerinde PECAM-1 diffüz olarak endotel hücreleri yüzeyinde yerleşmiştir. Fakat hücre-hücre ilişkisi kurulunca etkileşmenin olduğu bölgelerde yoğunlaşırlar. PECAM-1 in vivo şartlarda lökositlerin endotelden transmigrasyonunu sağlarlar (71).

İnflamasyon sırasında lökositlerin ekstrasvazasyonunu sağlamak için PECAM-1'in adezyon kaskadında anahtar rolü vardır. Yapılan çalışmalarda monosit veya nötrofillerin üzerindeki PECAM-1'e spesifik antikorlar sayesinde bu hücrelerin transendoteliyal migrasyonu inhibe olur. Endotel hücreleri arasındaki PECAM-1'ler bloke edilerek lökosit transmigrasyonu engellenir. İnflamasyonun transmigrasyon basamağında lökositlerin PECAM-1'e ihtiyacı vardır (71). Ratlarda yapılan çalışmalarda iskemi-reperfüzyon hasarında PECAM-1'e karşı antikorlar ile miyokardiyal infarkt alanı küçültülmüştür (74).

Kandaki hücreler ve damar kaynaklı diğer hücrelerde PECAM-1'in fonksiyonu daha az bilinmektedir. PECAM-1'e karşı monoklonal antikorlar nötrofil ve monosit kemotaksisini inhibe etmektedir (71).

PECAM-1 T lenfositlerin immun yanıt oluştururken fonksiyonunu etkilemektedir. PECAM-1'in 6 parçalı Ig benzeri bölgesine karşı olan monoklonal antikorlar ile T lenfosit aktivasyonu inhibe edilmektedir (75).

PECAM-1'in adı trombositler ile ilgili olmasına rağmen trombosit fonksiyonu üzerine büyük bir etkisi yoktur. B₃ integrin görevinin düzenlenmesi için reseptör agonisti görevi görür (71).

Hücrel Adezyonda PECAM-1'in Görevi

Endotel hücrelerin arasındaki bağlantı bölgelerinde bulunan PECAM-1'ler kendi aralarında homofilik etkileşimler gösterir. Bu etkileşimlerde A_vβ₃ integrin PECAM-1 için güçlü bir reseptördür. Böylece bu bölgede PECAM-1 yoğunluğu artar. PECAM-1 ile düzenlenen hücreler arası etkileşimde ekstrasellüler amino terminali görev alır. PECAM-1'in esas hedefi PECAM-1'dir. Anti-PECAM-1 monoklonal antikorlar lökositlerin transendoteliyal migrasyonunu bloke ederler.

Bu homofilik etkileşimlere ek olarak PECAM-1'in diğer hücre yüzey bölümlerine de etki ettiği görülmüştür. Divalan katyonların varlığında hücre yüzeyindeki glukozaminoglikanlara etki eder. Fakat PECAM-1'in kendine spesifik reseptörü gibi etkiler oluşturmaz. Yapılan deneysel çalışmalarda HUVEC (insan umbilikal ven endotel hücre) kültüründe PECAM-1/PECAM-1'in homofilik etkileşimleri endoteliyal hücrelerde hücre içi sinyal ileti yollarını aktive eder. Bu durumda PECAM-1'in fonksiyonları spesifik sinyal iletimi ile olmaktadır. (71, 76).

PECAM-1'in Tirozin Fosforilasyonu

PECAM-1'in sitoplazmik bölgesi 12 serin, 4 treonin, ve 5 tirozin rezidüsü içerir. Serin fosforilasyonu trombin ile uyarılmış trombositlerde meydana gelir. Tyr663 ve tyr686 shear stres varlığında stimule olmaktadır. PECAM-1'de tirozin fosforilasyonu uyarılan trombositlerde ve mast hücrelerinde gösterilmiştir. PECAM-1 fosforilasyonundan daha hızlı gelişen ve akıma duyarlı olan başka etkilerde oluşabilir (Geçici sitoplazmik Ca⁺² artışı, K⁺ kanal aktivasyonu gibi.) Bu mekanizmalar ile PECAM-1'in fosforilasyonu arasında ilişki bulunamamıştır (71, 77).

2.1.4.2 İntegrinler

Membran glikoproteinleri olup α ve β olmak üzere iki alt ünitesi mevcuttur. β alt grubu endotel hücreleri ve trombositler üzerinde bulunur. Trombosit glikoprotein IIb / IIIa reseptörü içerir. Bu reseptörler trombositler tarafından tanınır ve aktifleme sırasında değişime uğrarlar.

Trombosit agregasyonu uyarılırken fibrinojen ile aktive IIb / IIIa reseptörü çapraz bağ oluşturur (64).

2.1.4.3 Selektinler

Hücrel adezyon moleküllerinin selektin ailesi lökositler ve endotel hücreleri üzerindeki karbonhidrat ligandları ile etkileşir. Selektinler bulundukları hücre tipine göre isimlendirilirler. Endoteliyal (E-Selektin), trombosit (P-Selektin) ve lökosit (L-Selektin).

Nötrofil ve hatta lenfosit adezyonu için selektinler dolaşan lökositlerin endotel üzerine yaklaşmasını, hızlarının yavaşlamasını ve endotel üzerinde hareketini sağlar. E-selektinler sadece endotel hücreleri üzerinde bulunur. P-selektin bir glikoprotein olup trombositler ve endotel hücreleri (Weibel-Palade cisimcikleri) üzerinde bulunur. İnflamasyon, tromboz ve ateroskleroz gibi patolojik durumlarda endotel hücrelerine lökositlerin adezyonundan sorumludur. Selektinler aracılığı ile lökositlerin endotel hücreleri ile temasa geçmesi ve yavaşlaması ile endotel hücreleri üzerindeki karbonhidratlar ve lökositler temasa geçer (64).

2.1.5 Hiperhomosisteinemi

Serebrovasküler, periferik damar, koroner arter hastalığı ve venöz tromboz gibi hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür. Homosistein vaskülotoksik bir maddedir. Endotel hasarı yaparak aterogenezi uyarır. Aterogenezin erken fazında etkisi yoktur. Aterogenezin progresyonunda aterojenik ve trombojenik faktör olarak görev yapabilir. Yüksek seviyelerde metiyonin transmetilasyonunu inhibe eder. Böylece s-adenozilmetiyonin (SAM)'nin metil transferi inhibe edilir. Hipometilasyon sonucunda endotel hücrelerinin büyümesi inhibe edilir. Homosisteinin yüksek olduğu durumlarda endotel hücrelerinde dökülme gözlenmektedir. Bazı çalışmalarda homosisteinin yüksek seviyelerinin endotel hücreleri için sitotoksik olduğu ve vWF'nin bunun için iyi bir markır olduğu gösterilmiştir.

Uzun süre homosistein seviyelerinde yükseklik NO yanıtlarında azalmaya neden olur. NO homosisteini S-nitroso-homosistein şekline sokarak detoksifiye eder. Fakat uzun süreli homosistein maruziyeti durumunda bu sistem doyar ve NO'nun bu etkisi azalır.

Homosisteinin otooksidasyonu sırasında hidrojen peroksit, süperoksit radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleri oluşur. Bu ürünlerde bilindiği gibi lipid peroksidasyonuna, LDL oksidasyonuna ve NO'nun biyolojik aktivitesinde azalmaya neden olur. Hidrojen peroksit, katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından yıkılır. Bunlar oksidatif stres ve NO'nun inaktivasyonundan korunma için en önemli tamponlardır. Hiperhomosisteinemi durumunda glutatyon peroksidaz aktivitesi etkilenir.

Bradikinin tarafından uyarılan endotel hücrelerinde homosistein iNOS yapımını artırır. iNOS'da hiperhomosisteinin toksik etkilerini göstermesine yardımcıdır (78).

Homosistein ayrıca nukleer faktör κB 'yi aktive ederek vasküler düz kas hücreleri üzerine etki ederek iNOS aracılığıyla mitojenik etkilere neden olur (78).

2.1.6 Endotel Disfonksiyonu ve Brakiyal Arter Doppler Ölçümü

Damar duvarının elastisitesinin azalması aterosklerozun erken bulgularındadır. 1992'de Celermajer ve ark. periferik ultrasonografik tetkiklerle endotele bağlı dilatasyonu göstermişlerdir (79).

Brakiyal arter tansiyon aleti manşonu ile sıkılıp 4 dakika sonra gevşetildiğinde, akıma bağlı dilatasyon meydana gelmekte, bazal ölçüme göre akıma bağlı dilatasyon artışının yüzdesi, akıma bağlı vazodilatasyon (ABVD) sonucunun değerlendirilmesi için kullanılmaktadır. Endotel disfonksiyonu sistemik bir olay olduğu için brakiyal arterin dilatasyon yanıtı, koroner arterin vazomotor tonüsünü de yansıtmaktadır.

Ölçüm brakiyal, femoral ve radiyal arterlerde yapılabilir. Bu tekniğin avantajı non-invaziv olması, basit ve kolayca tekrarlanabilir olmasıdır. Damar çapındaki milimetrik değişiklikler endotel fonksiyonu hakkında bilgi vermektedir.

Ölçümlerdeki küçük hatalar yanlış pozitif ya da negatif sonuçlara sebep olabilir. ABVD ile saptanan % 4-8'lik farklar istatistik olarak anlamlı kabul edilebilir değerlerdir (79).

Klinik çalışmalar sonucunda % 2'nin üzerinde saptanan ABVD değişiklikleri verilen tedavinin etkili olduğunu gösterebilir. Hiperemik evrede saptanan dilatasyon endotelden salınan NO sayesinde olmaktadır. Bu arterlerde spesifik NO inhibitörleri ile (L-NMMA) reaktif hiperemiye bağlı olan vazodilatör yanıt % 70 oranında azalmaktadır. Vazodilatör yanıtta damar çapı kritik öneme sahiptir.

Endotele bağlı dilatasyon menstrüel sıklusa bağlı değişiklikler göstermektedir (80). Östrodiol seviyesinin arttığı foliküler ve luteal fazlarda ABVD artmaktadır.

Hiperkolesterolemi endotel disfonksiyonu ile direkt ilişkilidir. Aşırı yağlı diyetten sonra brakiyal arter vazodilatör cevapta % 50 azalma görülmüştür (81). Bu değişiklik trigliserid düzeyindeki akut artışa bağlıdır. Bu nedenle 12 saat açlıktan sonra ölçümler yapılmalıdır. Esansiyel hipertansiyonlu olguların endotele bağlı vazodilatasyon cevabı azalmıştır (82). Egzersiz postiskemik brakiyal arter dilatasyonunu arttırmaktadır (83). Sigara reverzibl ve doza bağlı olarak brakiyal arter vazodilatör cevabı azaltmaktadır (84).

Familyal hiperkolesterolemide, ileri yaşıta, hiperhomosisteinemide ve diyabette azalmış vazodilatör cevap vardır (85,86,87,88). Diyabetin süresi ve LDL düzeyi ile vazodilatör cevap arasında negatif korelasyon görölmektedir.

2.1.7 Paraoksonaz (PON1)

Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolün (HDL-c) ters kolesterol metabolizmasında rol oynadığı bilinmektedir. Bu şekilde HDL partikülleri ile kolesterolün fazlası karaciğere geri getirilir ve safra asidleri olarak vücuddan atılır. Son zamanlarda HDL partiküllerinin antioksidan ve/veya antiinflamatuvar partiküller olduğı da görölmüştür. Bu nedenle HDL partiküllerinin yapısal ve fonksiyonel çeşitliliğı önem kazanmıştır. HDL'nin yeni komponentleri keşfedilmiştir. Bunlar PON1 ve asetil hidrolazdır (89).

PON1 Yapısı

PON1 bir ester hidrolazdır. Kalsiyum bağımlı bir enzim olup aktivitesi tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. PON1 önceleri paration adlı insektisidin metaboliti olan paraoksonu katabolize ettiğı için farmakologlar tarafından yoğun ilgi görmüştür. PON1 fenilasetat gibi başka maddeleri de substrat olarak kullanır. Son yapılan çalışmalarda PON1'in vasküler biyolojide, özellikle lipid ve lipoprotein metabolizmasında yer aldığı tespit edilmiştir (90).

İnsan serumunun ultrasantrifüjü ile PON1'in kanda HDL yapısında taşındığı saptanmıştır. Safılaştırma sırasında apoA1'in PON1'den zor ayrılması ikisinin birbiriyle sıkı ilişkili olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmalarda PON1 aktivitesi ile HDL, apoA1 ve apoA2 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkili tespit edilmiştir. Ancak bu PON1'in tüm HDL partikülleri ile ilişkili olduğunu göstermez. En son immünoafinite kromatografi çalışmalarda insan serum PON1'inin gerçekte apoA1 ve klusterin (apoJ) içeren HDL tiplerinde bulunduğı ve PON1 içeren HDL'nin totalin çok az bir kısmını oluşturduğu gösterilmiştir (89).

PON1 43-45 kDA molekül ağırlığında 354 aminoasid içeren oldukça glikozile bir proteindir. Üç karbonhidrat zinciri içerir. Bunların her biri molekül ağırlığının %15.8'ini oluşturur. Aminoasid diziliminde lösin içeriğı fazladır. Enzim aktivitesi Ca^{+2} a bağımlıdır. Ca^{+2} direkt katalitik reaksiyonda yer alarak veya aktif bölgenin uygun konformasyonunu sağlayarak aktif alanın korunmasında yer alır (90).

HDL kolesterol düzeyinde erkek ve kadınlar arasında belirgin farklılıklar bulunmasına rağmen PON1 aktivitesinde cinsiyete ve yaşa bağımlı bir fark saptanmamıştır (91). Serum düzeyleri sabitken enzimatik aktivite kişiler arasında oldukça değışkenlik gösterir. Serum

aktivitesi yenidoğan ve infantlarda erişkin düzeyin yarısı kadardır. Erişkin düzeylerine doğumdan sonra bir yılda ulaşır ve yaşam boyu sabit kalır (89). Başlıca karaciğerden sentez ve sekrete edilir. Serum PON1 düzeyi diyet, akut faz olayları, gebelik ve apoA1 metabolizma bozukluklarından etkilenir (92).

Lipoproteinlerin Oksidasyonunda PON1'in Rolü

PON1 HDL'nin bir parçası olarak dolaşımda bulunur. PON1 apo A1'e sıkı olarak bağlanır. Bu bağlantı enzimin hidrofilik N-terminali ile gerçekleşir. Klimov ve ark. demir yardımı ile HDL'nin oksidasyona karşı koruyucu bir etkisi olduğunu, Parthasarathy ve ark normolipidemik kişilerden izole edilen total HDL'nin makrofajlar tarafından oxide LDL (oxLDL) yıkımını sağladığını tespit etmişlerdir (93, 94). Mackness ve ark PON1'in bakır ile inkübe edilen LDL molekülündeki lipid peroksidlerinin oluşumunu %90 inhibe ettiğini ve HDL'den saflaştırılan PON1'in tiobarbitürik asid reaktif ürünleri ve malondialdehid oluşumunu engellediğini ispatlamışlardır (95).

Watson ve ark biyolojik olarak aktif bir lipid olan hafif okside LDL üzerine PON1'in etkisini tespit etmiştir (96). PON1 hafif okside LDL'nin monosit transmigrasyonu veya adezyonu üzerine olan etkisini azaltmıştır. Ayrıca LDL'de doğal PON1 substratları saptamışlardır. Bunlar fosfolipid içeren araşidonik asidlerdir. Bu araşidonik asidlere 3-4 oksijen eklenir ve lökotrienlerde de oluşan konjuge trien yapılar oluşur (96, 97).

PON1 lipid peroksidlerin önemli bir taşıyıcısı olan HDL partiküllerini oksidatif hasardan korur. Normolipidemik kişilerde HDL-ilişkili PON1 aktivitesi ile LDL'nin oksidasyona duyarlılığı zıt yönde koreledir. PON1 tarafından oluşturulan antioksidan mekanizmalar ile lipid peroksidleri ve kolesterol ester hidroperoksidleri hidrolizlenir. Bu şekilde makrofajlardan kolesterol atılımında artma olur. Aterojenik okside lipoproteinlerin dolaşımdan karaciğere alınması artar ve atılımı artar (95). PON1 inflamatuvar genleri aktive ederek monositlerin endotele yapışmasını tetikleyen in vivo okside lipidleri temizler. Ateroskleroz patogenezinde rol alan proinflamatuvar molekülleri azaltır. Akut faz reaksiyonu sırasında PON1 aktivitesindeki kayıp ile HDL'nin koruyucu etkisinde azalma izlenmiştir (98, 99).

PON1 ve Kardiyovasküler Hastalık

Erken yağlı çizgilenme ateroskleroz gelişiminde öncü lezyondur. Bu lezyonun oluşumunu araştıran çalışmaların çoğu arter duvarında LDL'nin oksidasyonuna odaklanmıştır. Bu olayın nedeni endotel hasarıdır. LDL partikülleri arter duvarına bir defa girince progresif olarak oksidasyona uğrar. Çöpçü (scavenger) reseptörler aracılığı ile makrofajlar tarafından fagosit

edilir. Makrofajlar tarafından alınma lipid peroksidlerinin oluşumuna yol açar. Kolesterol ester birikimi oluşarak köpük hücreleri meydana gelir. Endotelde önce yağ çizgileri oluşur, sonra bu lezyonlar ateromatöz plaklara döner.

Okside LDL diğer monositler için kemotaktiktir ve endotelden köken alan makrofaj koloni stimüle edici faktör (MCSF) ve monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) salınımını düzenleyerek aterosklerozdaki inflamatuvar yanıtı katılır (100).

İlk olarak Mc. Elveen ve ark normal kontrollere göre akut myokard enfarktüsli hastalarda PON1 aktivitesinin düşük olduğunu tespit etmiştir (101). Aynı dönemde Mackness ve ark. Tangier hastalığı veya Balık gözü hastalığında düşük HDL düzeyleri ile birlikte çok düşük PON1 aktivitesi tespit etmişlerdir (102). Ayrıca heterojen familiyal hiperkolestrolemi veya IDDM'lu hastalarda istatistiksel olarak belirgin düşük PON1 aktiviteleri saptanmıştır (103). Çeşitli çalışmalar KAH'lı olguların plazmalarında lipid peroksidasyonu ürünlerinin arttığını gösterir. DM ve KAH'lı olgularda LDL'nin normal olgulara göre daha fazla oksidasyona yatkınlık gösterdiği bildirilmiştir (103). Watson paraoksonazın LDL oksidasyonunu inhibe ederek inflamatuvar yanıtı bloke ettiğini göstermiştir (104).

PON1 lipid peroksidleri gibi hidrojen peroksit (H_2O_2) de etkilidir. Aterogenezde arter duvarında üretilen en önemli toksik oksijen metaboliti H_2O_2 'dir. Oksidatif hasar koşullarında daha etkin ürünlere dönüşerek LDL oksidasyonuna neden olur. PON1'in okside LDL'deki kolesterol linoleat hidroperoksidleri ve hidroksidleri indirgemesi ile peroksidaz benzeri aktivitesi mevcuttur (105).

PON1 genindeki polimorfizm koroner arter hastalığı ile ilişkili bulunmuştur. İlk bulunan Gln→Arj 192 polimorfizmidir. PON1 genindeki Met→Leu 55 polimorfizminin fizyopatolojik etkisi araştırılmaktadır (106, 107).

PON1 ve Diabet

Kardiyovasküler hastalık diabette erken mortalite nedenidir. Oksidatif stresin aterojenik süreç ile yakın ilişkili olduğu ve hipergliseminin oksidatif strese predispozisyon oluşturduğu düşünülürse diabetik olgularda serum PON1'in rolü ortaya çıkar. Yapılan çalışmalarda PON1 192 ve PON1 55 genotiplerinin Tip II DM'lu olgularda artan sıklığı gösterilmiştir. Tip II DM'lu olgularda zayıf glisemik kontrolün serbest radikal oluşumunda artma ile birlikte olduğu ve PON1 polimorfizmi olanlarda yetersiz antioksidan etkiye bağlı olarak diabet komplikasyonlarına yatkınlığın artabileceği bildirilmiştir (108).

2.2 HİPERTANSİYON

2.2.1 Hipertansiyonun Tanımı ve Sınıflaması

Arteriyel kan basıncı (AKB) kanın damar duvarına yaptığı basınçtır. AKB'nın normal kabul edilen değerlerin üzerine çıkmasına hipertansiyon denir (109).

Günümüzde Amerika Birleşik Devletleri Birleşik Ulusal Komite'si (Joint of National Committee-JNC) ve Dünya Sağlık Örgütü-Uluslararası Hipertansiyon Derneği (WHO-ISH) hipertansiyon tanımlama ve sınıflamasına ait rehberler hazırlamıştır. Dünyada hekimler arasındaki görüş ayrılıklarını azaltmak ve karışıklıkları önlemek için WHO-ISH 1999 rehberi ve JNC-VI 1997 rehberindeki tanım ve sınıflamalar esas alınmıştır. Bu yeni rehberlerde, bir hastada yüksek kan basıncını düşürmek için tek başına kan basıncının düzeyi kriter olarak alınmamıştır. Aynı zamanda bireyin total kardiyovasküler hastalık riski ve hedef organ hasarının bulunması da göz önünde bulundurulmuştur (110, 111).

Buna göre hipertansiyonun tanımı, antihipertansif ilaç almayan hastalarda sistolik kan basıncı 140 mmHg, diastolik kan basıncı 90 mmHg ve/veya üzeri bulunması, veya kişinin antihipertansif alması şeklinde tanımlanmıştır (110, 111).

JNC-VI rehberindeki yetişkin bireylerde kan basıncı düzeylerinin sınıflandırılması tablo 1'de, WHO-ISH 1999 rehberi hipertansiyon tanım ve sınıflaması tablo 2'de gösterilmiştir.

Kategori	Sistolik kan basıncı(mmHg)	Diastolik kan basıncı(mmHg)
Optimal	<120	ve <80
Normal	<130	ve <85
Yüksek-normal	130-139	veya 85-89
Hipertansiyon		
Evre 1	140-159	veya 90-99
Evre 2	160-179	veya 100-109
Evre 3	≥ 180	veya ≥ 110

Tablo 1: JNC-VI rehberi. Yetişkinlerde kan basıncı sınıflaması

Kategori	Sistolik kan Basıncı (mmHg)	Diastolik kan Basıncı (mmHg)
Optimal	<120	<80
Normal	<130	<85
Yüksek-normal	130-139	85-89
Grade 1HT (hafif)	140-159	90-99
Subgrup:borderline	140-149	90-94
Grade 2 HT (orta)	160-179	100-109
Grade 3 HT (ağır)	≥ 180	≥ 110
İzole sistolik HT	≥ 140	<90
Subgrup:borderline	140-149	<90

Tablo 2: WHO-ISH 1999 rehberi, hipertansiyon tanımlama ve sınıflaması

2.2.2 Etiyoloji

Hipertansiyon esansiyel hipertansiyon (primer, idiyopatik, nedeni bilinmeyen) ve sekonder hipertansiyon (nedeni bilinen) olarak iki gruba ayrılır. Esansiyel hipertansiyon henüz tam açıklanamamış nedenlerle arteriyel kan basıncının sürekli normal kabul edilen değerden yüksek olmasıdır. Hipertansif hastaların % 90-95'i bu gruptadır. Sekonder hipertansiyon ise daha nadir görülüp, nedeni saptanabilir. Bu nedenle esansiyel hipertansiyondan oldukça farklıdır (109).

2.2.3 Esansiyel Hipertansiyonun Fizyopatogenezi

Kan basıncının normal düzeylerde korunması için bir çok fizyolojik mekanizma devreye girer. Esansiyel hipertansiyon gelişirken bu fizyolojik mekanizmalarda değişiklikler meydana gelir. Hipertansiyonda birbiri ile ilişkili bu mekanizmaların olaya karışması kişiden kişiye farklılıklar gösterir (112). Esansiyel hipertansiyon gelişiminde rol alan mekanizmalardan en yoğun biçimde ele alınanlar, tuz alımı, obezite ve insülin rezistansı, renin-anjiyotensin sistemi ve sempatik sinir sistemidir. Son yıllarda diğer yeni faktörlerde incelenmiştir. Bunlar genetik, endotel disfonksiyonu, düşük doğum ağırlığı ve intrauterin beslenme ve nörovasküler anomalilerdir.

Kardiyak Output ve Periferik Vasküler Rezistans

Arteriyel kan basıncını oluşturan faktörler kardiyak output (CO: debi) ve periferik rezistans (PR). Arteriyel kan basıncı $CO \times PR$ şeklinde formüle edilir. CO, PR veya her ikisinin birlikte artması sonucunda arteriyel kan basıncında yükselme olur. Bir çok hipertansif hastada CO normal olup, PR artmıştır. Periferik rezistans büyük arterler ve kapillerlerde saptanamaz. Küçük arteriyollerde saptanır, çünkü arteriyollerin duvarında düz kas hücreleri vardır. Fonksiyonel olarak arteriyoller düz kasın kontraksiyonu eğer uzun sürerse yapısal değişiklikler ortaya çıkar ve arteriyoller damar duvarlarında kalınlaşma yani hipertrofi meydana gelir (113). Damar tonusu üzerine etki ederek periferik vasküler direnci arttıran ve yapısal hipertrofiye neden olan faktörler özet olarak şu şekilde sınıflandırılabilir;

- a) Adrenerjik stimulasyon yapan faktörler: Katekolaminler, anjiotensin II, serotonin, vazopressin
- b) Lokal vazoaaktif peptidler: Lokal anjiotensin II, endotelin, vazoaaktif peptidler
- c) İyonlar: Potasyum, magnezyum

Arteriyel tonus artışı ve damar duvar kalınlaşması ile hipertansiyondaki başlıca patoloji olan periferik damar direnci artışı meydana gelir.

Renin Anjiotensin Sistemi (RAS)

RAS kan basıncı kontrolünü etkileyen endokrin sistemler içinde en önemli komponenttir. Renin jukstaglomeruler aparatustan salgınır ve tuz alınımasını azaltır. Ayrıca sempatik sinir sistemi uyarılınca da salgınır.

Renin, anjiotensinojeni inaktif olan anjiotensin I'e çevirir. Bu da anjiotensin converting enzim (ACE) ile anjiotensin II (AII)'ye çevirilir. AII güçlü bir vazokonstriktör olup kan basıncında yükselmeye neden olur. Sürrenal bezin zona glomerulozasından aldosteron salgınımını uyarır. Aldosteron sodyum ve su retansiyonuna bağlı tansiyon artışında görevlidir (113).

Esansiyel hipertansiyonda dolaşımda bulunan RAS kan basıncının yükselmesinde doğrudan rol oynamaz. Bir çok hipertansiyon hastasında renin ve AII düşük düzeylerde dir. Renin anjiotensin sistemini bloke eden ilaçlar dolaşımdaki bu sisteme tam olarak etki etmez.

RAS'nin parakrin ve otokrin etki yaptığı bilinmektedir. Lokal RAS böbrek, kalp ve arteriyel damarlarda bulunur. Bu bölgelerde kan akımının regülasyonda önemli rol oynar (113,114).

Otonom Sinir Sistemi

Sempatik sistem stimulasyonu hem arteriyoler vazokonstrüksiyon hem de arteriyoler vazodilatasyona neden olur. Sempatik sinir sistemi kan basıncının normal seviyelerde korunmasında önemli rol oynar. Stres ve fiziksel aktiviteye yanıt olarak kan basıncındaki kısa süreli değişikliklerin oluşmasında rol alır. Hipertansiyonun etiyolojisinde epinefrin ve norepinefrinin bir miktar rol aldığına dair ipuçları vardır ve sempatik sinir sistemi blokerleri hipertansiyon tedavisinde etkilidir. Hipertansiyon otonom sinir sistemi ve RAS'nin birbiri ile etkileşimi ile oldukça ilişkilidir. Ayrıca bu etkileşime sodyum, dolaşımdaki kan volümü ve bazı hormonlar katılmaktadır (113, 114).

Genetik Faktörler

Hipertansiyonda genetik yatkınlık %30-60 oranında görülmektedir. Farklı gen tipleri ve genetik faktörler esansiyel hipertansiyon gelişimiyle ilişkilidir. Genellikle birçok genin bir kişide hipertansiyon patogenezinin sorumlu olması daha sıktır. Ebeveynlerinden bir tanesinin esansiyel hipertansiyonlu olması o kişide hipertansiyon riskini iki katına çıkarır. Hipertansif bir bireyin ikizi veya birinci derece akrabaları arasında esansiyel hipertansiyon görülme oranı fazladır (113, 114).

Plazma anjiotensinojen seviyeleri hipertansiyonu olan kişilerin çocuklarında daha da yüksek bulunmuştur (114).

Suçlanan genetik bozuklukların bazıları şunlardır:

- a) Na^+ 'un hücre membranının dışına çıkarılmasında defekt; genetik hipertansiyonun deneysel modellerinde Na^+-K^+ ATPaz enziminin azaldığı (sodyum pompasında azalma), böylece hücre içinde Na^+ 'un arttığı saptanmıştır. $\text{Na}^+-\text{Ca}^{+2}$ exchange mekanizması ile hücre içinde Ca^{+2} artar. Artan Ca^{+2} vazokonstrüksiyon yoluyla sistemik vasküler direnci artırır.
- b) Ca^{+2} transportunda artma.
- c) Potasyum anormallikleri; siyah ırkta diyetdeki potasyum azalmıştır (115).

Eğer hipertansiyon gelişimine zemin hazırlayan genetik göstergeler tespit edilebilirse, bu tip hassas kişilerin çevresel faktörlerden etkilenmesi en aza indirilerek hipertansiyon gelişimi azaltılabilecektir. Hipertansif kişilerin çocukları ve birinci derece akrabaları genetik yatkınlık nedeniyle kontrol altında tutulmalıdır (116).

Hiperkoagulabilite

Hipertansiyon hastalarında damar duvarında anormallikler (endotel disfonksiyonu gibi), kanın yapısında anormallikler (hemostatik faktör seviyelerinde patoloji, trombosit aktivasyonu, fibrinoliziz gibi) ve kan akımı anormallikleri oluşur. Yani hipertansiyonda protrombotik zemin ve hiperkoagulasyona eğilim oluşmaktadır. Bu durum end organ hasarı oluşumu, uzun dönemde prognozun belirlenmesi ve antihipertansif tedavinin seçimi için önem taşımaktadır. Hipertansiyonun trombotik paradoksu; hipertansiyonda damarlar yüksek basınçlara maruz kaldığı için hipertansiyonun miyokard enfarktüsü ve strok gibi en önemli komplikasyonları hemorajik değil trombotiktir (114).

Hiperinsulinemi

Hipertansiyonlu olgularda obezite, glukoz intoleransı, diabetes mellitus ve hiperlipidemiye sık olarak rastlanmaktadır. Tüm bu durumlar bir sendrom altında toplanmıştır. Buna Metabolik Sendrom X, Reaven's Sendromu veya İnsulin Rezistans Sendromu denir (114, 117, 118).

Endotel Disfonksiyonu

Damar endotel hücreleri kardiyovasküler sistemin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Endotel hücreleri birçok kasıcı ve gevşetici maddeler sentezler ve salgırlar. Altında yatan komşu damar düz kas hücrelerini etkilerler. Endotel disfonksiyonu esansiyel hipertansiyonda görülen bir durumdur. Endotel fonksiyonunun bazı ilaçlar ile düzenlenmesi ile hipertansiyonun bazı önemli komplikasyonlarının oluşumu azaltılabilir (114).

Vazoaktif Maddeler

Birçok vazoaktif sistem ve mekanizma Na^+ transportunu ve vasküler tonusu etkiler. Fakat bu mekanizmaların tam olarak hipertansiyon mekanizmasında rol alıp almadığı açık değildir. Güçlü vazoaktif ajanlara örnek olarak vazodilatör olan nitrik oksid, vazokonstriktör olan endotelin sayılabilir. Endotelin tuza duyarlı hipertansiyon oluşma mekanizmasında rol oynar. Lokal RAS'ı aktive eder. NO arter ve venlerin endotelinde sentezlenir ve damar düz kaslarına doğru salınarak vazodilatasyon oluşturur. Bradikinin de bir vazodilatör olup anjiotensin converting enzim ile inaktive edilir. ACE inhibitörlerinin bradikinin inaktivasyonunu bloke etme gibi bir etkisi de vardır. Atriyal natriüretik peptid kalbin atriumundan artan kan volümüne yanıt olarak salınan bir hormondur. Böbreklerden sodyum ve su atılımını sağlar. Doğal bir diüretiktir. ANP'te olan bir defekt sonucunda sıvı retansiyonu ve hipertansiyon oluşabilir (114).

2.3 DİABETES MELLİTUS

Diabetes Mellitus (DM) dünyada en sık görülen hastalıklardan biridir. Temel patoloji karbonhidrat metabolizmasındaki bozukluktur. Vücuttaki dokularda glukozun kullanılamaması sonucu kan glukoz seviyelerinin yüksek olması ile karakterizedir. Kronik hiperglisemi sonucunda hedef organlarda harabiyet gelişimi ile ciddi morbidite nedeni olan bu hastalıkta, bazı olgularda hayatı tehdit edebilen ketoasidoz veya hiperosmolar koma gibi akut hiperglisemi atakları da meydana gelebilir. Hastalık ilerledikçe oluşabilecek spesifik komplikasyonlarda artma olur. Bunlar sıklıkla körlüğe kadar gidebilen retinopati, böbrek yetmezliği, nöropati ve aterosklerozdur. Ateroskleroz strok, gangren veya koroner arter hastalığı ile sonuçlanabilir (119).

DM'un prevalansı tam olarak bilinmemektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1987'de 6.8 milyon insanın diabetli olduğu tespit edilmiştir. Esas vakaların yarısının tanısı olmadığı göz önünde bulundurulursa bu rakamın ortalama 14 milyon kadar olduğu tahmin edilmektedir (120). Diabetes mellitusun prevalansı yaşla artar. Vakaların yarısı 55 yaş üzerindedir (121).

DM'un Sınıflaması

1979'da Ulusal Diabet Grubunun çalışması ile diabet iki gruba ayrılmıştır; Tip I (insuline bağımlı: IDDM) ve Tip II (insuline bağımlı olmayan: NIDDM) (122).

Amerikan Diabet Derneği tarafından 1997'de sınıflama tekrar gözden geçirilerek IDDM ve NIDDM terimleri elimine edilmiş, Tip I ve Tip II diabet olarak isimlendirilmiştir.

DM'un sınıflaması ve glukoz intoleransının diğer kategorileri:

- 1) Tip I DM (immun, idiopatik)
- 2) Tip II DM
- 3) Gestasyonel DM
- 4) Bozulmuş glukoz toleransı
- 5) Bozulmuş açlık glukozu

2.3.1 Tip II DM

Bu grup tüm diabet vakalarının %90'nı oluşturur. Hastaların minimum semptomu vardır. Genelde ketosise kadar ilerlemezler. İnsuline bağımlı değildir. İnsulin seviyeleri normal, düşük veya yüksek olabilir.

Tip II diabeti olan hastaların çoğunda bozulmuş insülin aktivitesi vardır. Obezite ile sıklıkla birliktelik gösterir. Kilo kaybı ile hiperglisemi düzelebilir. Tip II diabetes mellituslu hastalar diet, oral antidiabetik ajan veya insülin kullanabilir. Bir çok kişide hastalık 40 yaş üzerinde ortaya çıkar.

2.3.1.1 Tip II DM Fizyopatogenezi

Tip II DM'da bilinen en az iki patolojik durum mevcuttur. Birincisi periferik dokularda insülinin etki edememesidir. Buna insülin rezistansı denilir ve primer patolojik olay olduğu düşünülmektedir. Diğeri ise pankreas β hücrelerinin disfonksiyonudur. Pankreas insülin rezistansını kompanse etmek için yeterli miktarda insülin üretemez. Bu durumda hastalığın erken döneminde hafif eksikliği, ilerleyen döneminde ise insülinin tam eksikliği olur. Fakat bazı çalışmalarda insülin rezistansının primer defekt olduğu saptanmıştır (123,124,125).

DM'un oluşumu multifaktoriyeldir. İnsülin rezistansı ve insülin sekresyonundaki temel moleküler bozukluklar çevresel ve genetik faktörlerin kombinasyonu ile olur.

Çevresel Faktörler

Diet ve egzersiz gibi çevresel faktörler Tip II diabetes mellitusun (Tip II DM) patogenezinde önemli rol oynar. Tip II DM gelişimi ve obezite arasında bir ilişki olduğu hakkında birçok bulgu vardır. Hastaların %60-80'ninin obez olmasına rağmen obez kişilerin %15'den azında diabet gelişmektedir. Ailede Tip II DM hikayesi (genetik predispozisyon) varsa, kişinin obez olması ve vücutta yağ dağılımı önem kazanır. İlginç olarak fiziksel aktivite ve Tip II DM prevalansında ters bir ilişki mevcuttur. Her 500 kcal'lık günlük enerji harcanmasında yaşla düzeltilmiş Tip II DM'da %6'luk bir azalma olur. Bu etki kilodan ve ailesel diabet öyküsünden bağımsızdır. Egzersizin koruyucu etkisi kas ve yağ dokularında insülin sensivitesini arttırması olarak açıklanabilir.

β Hücre Fonksiyon Kaybı

İnsülin rezistansına bağlı artan β hücre aktivitesi nedeniyle progresif olarak β hücre fonksiyon kaybı olur. Bu durum açlık hiperglisemisi gelişimi ile sonuçlanır. Esas defekt glukoz ile uyarılan insülin salınımında kayıptır. Buna glukozu selektif yanıtsızlık denir (selective glucose unresponsiveness). Disfonksiyonun seviyesi hem glukoz konsantrasyonu hemde hiperglisemi süresine bağlıdır.

2.3.2 DM'da Gelişen Kronik Komplikasyonlar

Diabetes Mellitusta hastalığın seyri sırasında bir çok komplikasyon meydana gelir.

1. Küçük arter tutulumu
 - a. Retinopati
 - b. Nefropati
2. Büyük arter tutulumu
 - a. Koroner kalp hastalığı
 - b. Periferik damar hastalığı
3. Nöropati

Diabetes Mellitusta Üriner Albumin Atılımının Fizyopatolojisi

Bowman kapsülünün üriner boşluğu ve glomerüler kapiller arasında 5.5 nm çaplı porlar ile kaplı bir membran bulunmaktadır. Bu porlar heparan sulfat, siyalik asid ve diğer proteoglikanların negatif yükleri ile kaplıdır. Moleküllerin büyüklükleri ve şarjları glomerüler filtrasyonu sağlayan hemodinamik güçlere ek olarak membran boyunca pasajı belirler (126).

Transglomerüler basınç artışına bağlı olarak mikroalbuminüri'nin erken evresinde albumin ve IgG klirensi artmıştır. Glomerüler basınç artışı moleküllerin elektriksel yüklerinden bağımsız olarak proteinlerin filtrasyonunu artırır (126).

Mikroalbuminüri artınca albumin klirensi artar. IgG klirensi albumine göre azalmaya başlar. Böbrekte bazal membranın bir komponenti olup elektronegativiteyi sağlayan glikosiyaloproteinlerin ve proteoglikanların kaybı, bazal membranda elektronegativiteyi azaltmış olabilir. Bunu takiben efektif por büyüklüğü artar. Mikroalbuminüri makroalbuminüriye ilerler. Glomerüler filtrasyon bariyeri selektivitesini kaybettiği için glomerüler filtrasyon hızı azalmaya başlar (126, 127)

Sonuç olarak ilerlemiş renal yetmezlikte proteinüri tübüler ve glomerüler orijinlidir. Tübüllerden filtre edilen proteinleri absorpsiyon yeteneği bozulur (126).

Diabetes Mellitusta Hipergliseminin İndüklediği Böbrek Hasarının Fizyopatolojisi

Çeşitli biyokimyasal mekanizmalarla hipergliseminin böbrek üzerine olan etkileri açıklanmıştır (126):

- Proteinlerin nonenzimatik glikasyonu
- Anormal poliyol yolu
- Glukoz toksisitesi
- Glukozun indüklediği büyüme faktörü gen ekspresyonu
- Artmış sodyum reabsorpsiyonu
- Artmış protein kinaz C aktivasyonu
- Artmış sitokin yapımı
- Ekstrasellüler matriks artışı
- Hücre siklusu ve proliferasyon hızında bozukluk
- Hücre membranındaki anyon şarjlarda azalma
- Anormal lipid metabolizması
- Anormal katyon transportu

Nonenzimatik Glikasyon

Hücrel proteinlerin nonenzimatik glikasyonu, artmış glukoz seviyeleri ve diabetik nefropati arasındaki ilişkiyi açıklayan mekanizmalardan bir tanesidir. Bu durum üç yoldan meydana gelebilir;

1. AGE'ler ekstrasellüler matrikste yer alan proteinlerin çapraz bağlanmasını artırarak ekstrasellüler matriks yapısını ve fonksiyonunu değiştirir.
2. AGE'ler sitokinler, büyüme faktörleri ve serbest radikaller gibi moleküllerin sinyal aktivitesini etkileyebilir.
3. Glikasyon, enzimlerin ve ekstrasellüler proteinlerin fonksiyonunu direkt olarak etkileyebilir.

Endotel hücrelerinde, mezenşiyal hücrelerde ve makrofajlarda AGE'ler AGE reseptörlerine bağlanır. İnsulin benzeri büyüme faktörü-1 ve IL-1 sentezi ve salınımı indüklenir. Mezenşiyal hücre proliferasyonu ve tip IV kollajenin glomerüler sentezi uyarılır. Kollajenlerde aşırı çapraz bağlanma olur. Glomerüler bazal membran ve mezenjiyum matriks yapısı bozulur. AGE'ler trombosit kaynaklı büyüme faktörünü indükleyerek ekstrasellüler matriks üretimini uyarır (126).

Bu şekilde mezenşiyal ekstrasellüler matriks depolanması artar. Glomerüler hasara neden olur. AGE'ler ayrıca antiproliferatif bir vazodilatör faktör olan nitrik oksid inaktivasyonuna neden olur (126).

Diabetik Nefropatide Poliyol Yolu

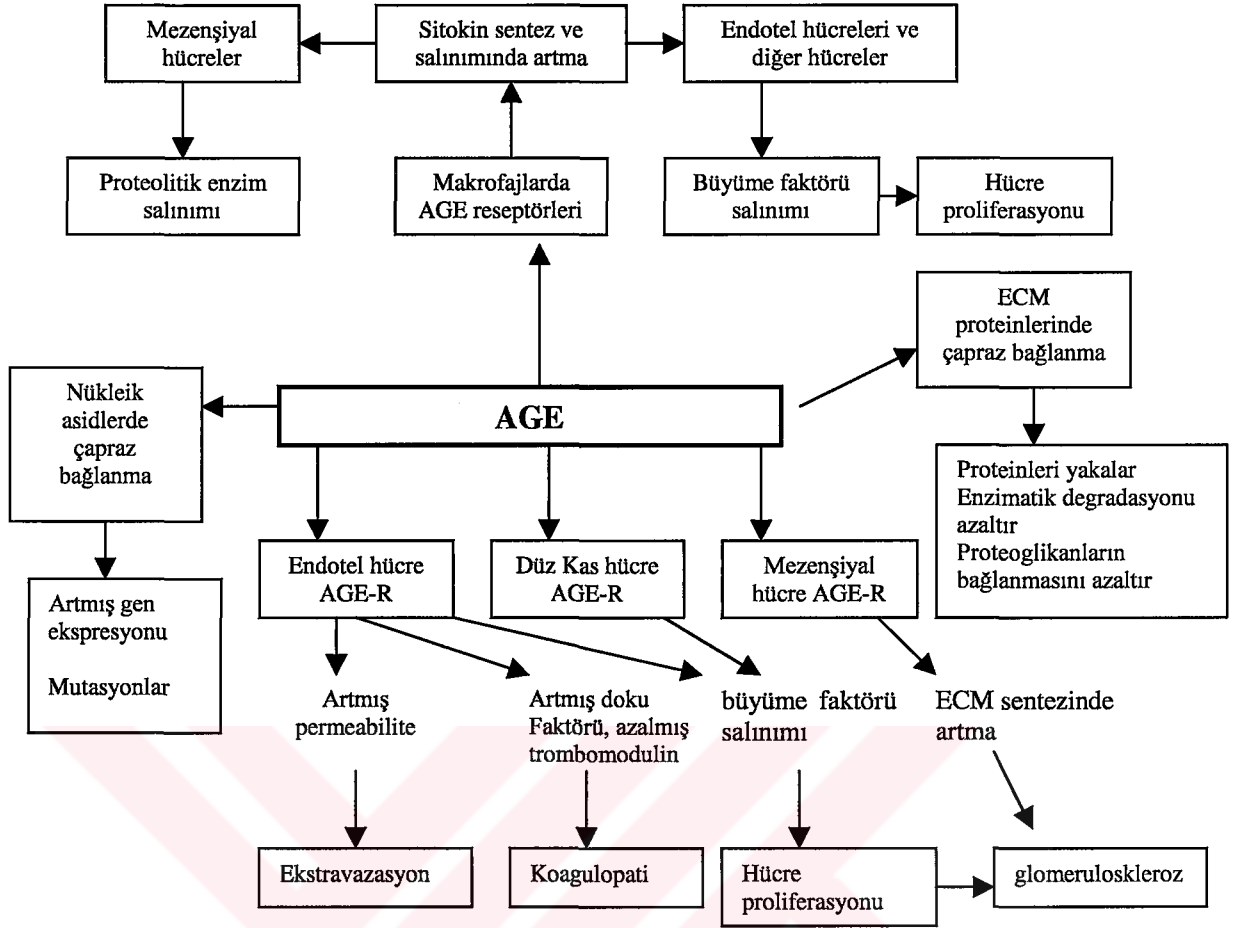
Poliyol yolunun aşırı aktivasyonu sonucu glikozdan hücre içinde aldoz redüktaz ile sorbitol oluşumu artar. Kronik hiperglisemi böbrek glomerüllerinde ve tübüllerinde sorbitol birikimine neden olur. Sorbitol hücrede osmotik dengelerin bozulmasına ve hücre içi miyoinozitolün azalmasına neden olur. Fosfoinozitollerde azalma fosfotidilinozitol bifosfatın azalmış hidrolizi ve diaçilgliserol oluşumunda azalma ile sonuçlanır (126).

Glukotoksisite

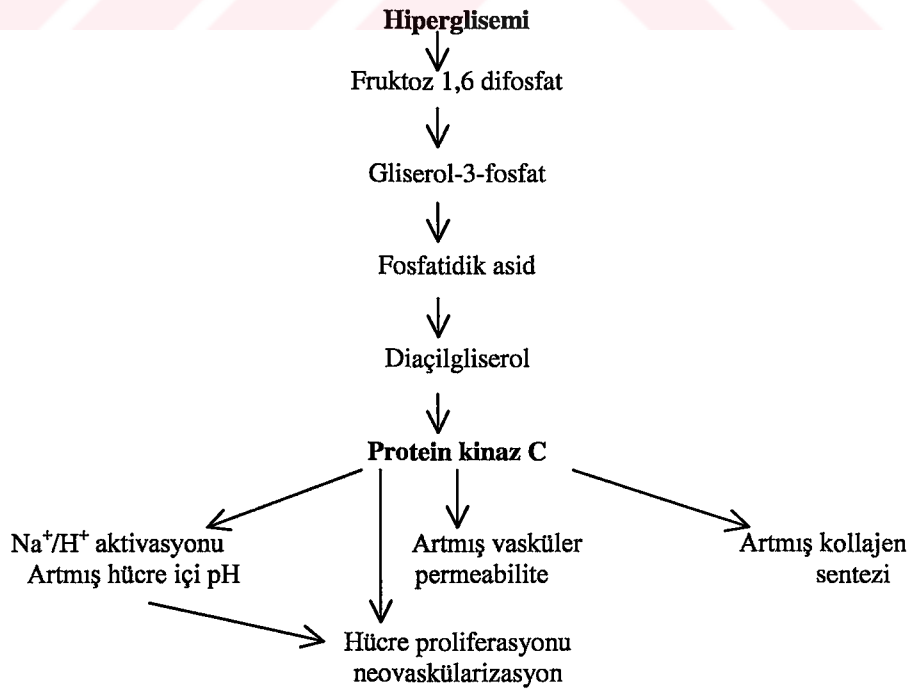
Glukoz, doğrudan hücreler üzerine toksik etkili olabilir. Yüksek glukoz konsantrasyonu hücre siklusu ve proliferasyonunda bozulma, kollagen, fibronektin, laminin sentezinde ise azalmaya neden olmuştur. Ekstrasellüler matriks (ECM) üretimi bu şekilde indüklenmiştir. Glukoz konsantrasyonunda artma ile mezenşiyal hücrelerde heperan sülfat sentezinde azalma meydana gelir. Bazal membranın elektronegatif şarjı azalmıştır. Glukoz konsantrasyonunda artma ayrıca trombosit büyüme faktörü β (TGF- β) sentez ve sekresyonunu arttırmıştır. TGF- β , ECM sentezini artırır ve ekstrasellüler matriks yıkımını inhibe eden tek sitokindir (126).

Protein Kinaz C Sistemi (PKC)

Çeşitli hücresel fonksiyonlarda rol alan hücre içi sinyal sistemidir. Büyüme faktörleri, hormonlar, nörotransmitterler, prostaglandinler ve ilaçlara karşı meydana gelen hücresel yanıtın sinyal iletiminde görev alır. Büyüme hızı, DNA sentezi hormon ve büyüme faktörü reseptörlerinin yıkım ve yapımını düzenler. Hücresel protein kinaz C (PKC) aktivitesi, diaçil gliserol (DAG) ve inositol fosfat ile regüle edilir. Diabetiklerde DAG'un sentezi sorbitol gibi glukoz deriveleri ile artmıştır. PKC translokasyonu ve böbrekte aktivite artışına neden olur. PKC aktivitesi tam olarak bilinmeyen mekanizmalar ile mikrovasküler komplikasyonları oluşturur (126).



Şekil 11: AGE lerin diabetik nefropati patogeneziindeki yeri



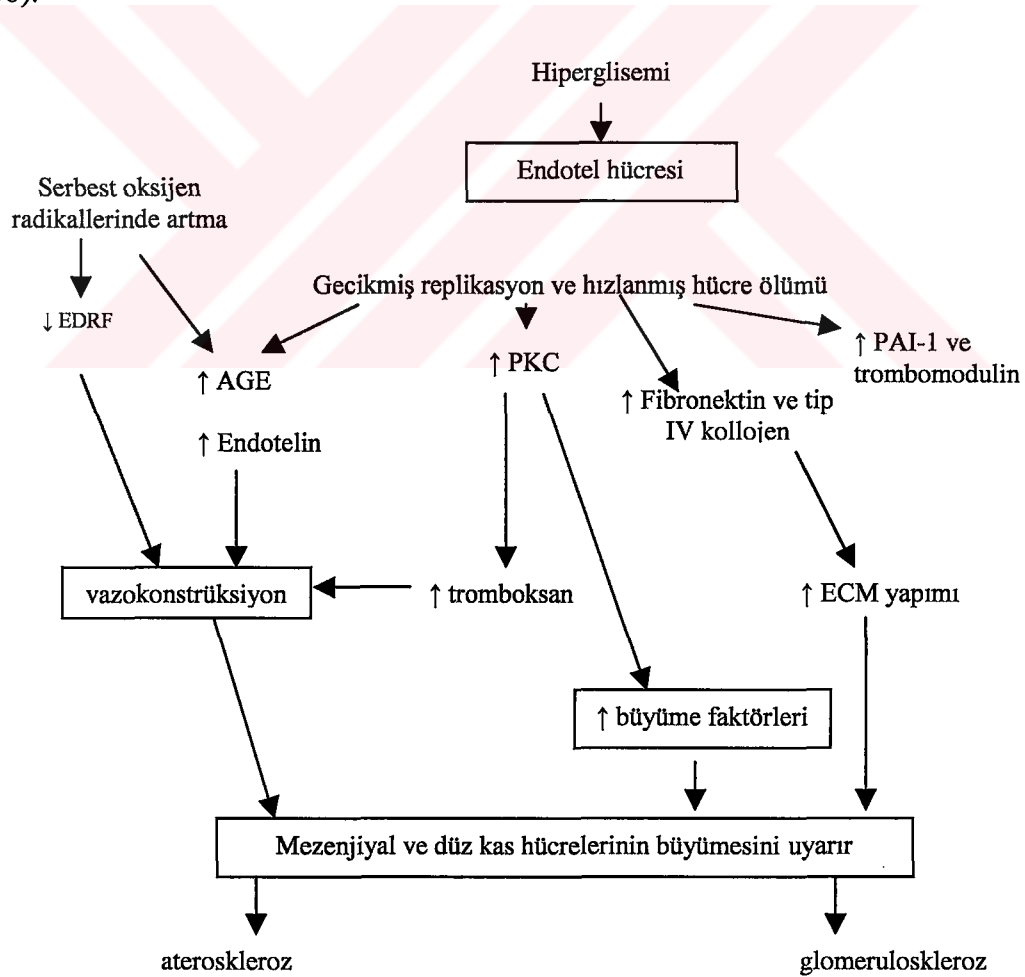
Şekil 12: Hipergliseminin protein kinaz C aktivasyonu

Anormal Endotel Fonksiyonu

Diabetik nefropatide endotel disfonksiyonu tespit edilmiştir. Endotel hücrelerinin sentezlediği von Willebrand faktör (vWF) ve trombomodulin (TM) sekresyonu endotel hasarını yansıtır. Mikroalbuminüri olan diabetiklerde nitrik oksid aracılı endotele bağımlı relaksasyon azalır. vWF ve TM dolaşımında yükselir. Mikroalbuminüri ayrıca genel olarak endotel disfonksiyonu sonucu oluşabilir. Bu transkapiller albumin kaçağının olduğunu gösterir (128, 129).

Diabet çeşitli mekanizmalar aracılığı ile endotel fonksiyonunu etkiler. Bunlar direkt glukotoksisite, artmış poliyol yolu, artmış PKC aktivasyonu, serbest radikallerde artma sonucu NO inhibisyonu ve AGE sentezidir. Diabetik nefropati yaygın endotel disfonksiyonun en belirgin sonucudur. Glomeruloskleroz glomerüler endotel ve mezenjiyum tabakası arası etkileşimde meydana gelen değişiklikler sonucu oluşur. Bu şekilde endotel disfonksiyonu artmış albumin atılımı ve ateroskleroz arası ilişkiyi de ortaya koyar (128).

Mikroalbuminüri olan Tip II DM'lu olgularda fibrinojen ve PAI-1'in arttığı gösterilmiştir (130).



Şekil 13: Hipergliseminin endotel hücre hasarı ile olan ilişkisi. ECM: ekstrasellüler matriks, AGE: ileri glikasyon son ürünleri, PKC: protein kinaz C, EDRF: endotel kaynaklı gevşetici faktör, PAI-1: trombosit aktivatör inhibitör.

2.4 HİPERTANSİYON - TİP II DİABETES MELLİTUS BİRLİKTELİĞİ

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda diabetik kişilerde hipertansiyon sıklığının diabetik olmayanlara göre iki kat fazla olduğu gösterilmiştir. Tip I DM'lu olgularda, Tip II DM'lu olgulara göre hipertansiyon sıklığı farklılık gösterir. Tip I' de hipertansiyon böbrek patolojilerinin ortaya çıkışı ile birlikteliktir. 30 yıllık Tip I DM'lu kişilerde hipertansiyon görülme sıklığı yaklaşık %50'dir. Tip II DM'lu olgularda hipertansiyon sıklığı yaklaşık %65-70'tir (126).

Diabetiklerde görülen hipertansiyon bu hastaların morbidite ve mortalitesini artırır. DM ve hipertansiyon birlikteliği kişiyi ani kardiyak ölüm, koroner kalp hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, serebrovasküler hastalık ve periferik damar hastalığı gelişmesi yönünden çok daha büyük bir tehlike ile karşı karşıya bırakır (126).

Diabetik hastalarda hipertansiyonun tedavisi çok büyük önem taşır. Diabette makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişmesinde hipertansiyon çok ciddi bir risk faktörüdür. Bu nedenle hipertansiyon gelişen diabetiklerin tedavisine daha ciddi yaklaşılmalı ve bu grup hastalarda seçilen antihipertansif tedavi farklı olmalıdır.

Etiyoloji ve Patogenez

Diabetik olmayan kişilerde olduğu gibi hipertansiyon diabetiklerde rastlantısal olarak ortaya çıkabilir. Diabetik popülasyonun %10'nunda esansiyel hipertansiyon gelişmektedir. İleri yaşta daha sık gözlenen ve arteriyel kompliance azalma ile seyreden izole sistolik hipertansiyon da gelişebilir. Bazı olgularda hipertansiyonun nedeni kullanılan diabetojenik ve/veya hipertansif bir ilacın yan etkisi veya endokrinolojik bir bozukluk olabilir (126).

Genetik ve ailesel bazı faktörler genel popülasyonda hipertansiyona eğilimin bir nedeni olabilir. Bu olguların bazılarında insülin rezistansı da gelişebilir. Böylece diabet gelişmesinde özellikle de Tip II DM gelişmesinde risk faktörü artar (131).

İnsülin direnci, hiperinsülinemi, hipertansiyon, dislipidemi ve kardiyovasküler hastalık arasındaki ilişkiye araştırmacılar dikkat çekmiştir (132). Bu patolojilerin birlikte bulunması Reaven adlı araştırmacı tarafından insülin direncine bağlanmıştır. Bu birlikteliği Sendrom X olarak adlandırmıştır. İnsülin direnci dolaşımda yüksek insülin düzeyleriyle birlikte olabilir. İnsülin direncine bağlı olarak insülin düzeyinin artması Tip II DM'da hipertansiyonun patogenezi ile ilişkilidir (131).

İnsulinin bilinen metabolik etkilerinin yanı sıra iyon dengesi, sempatik aktivite ve damar reaktivitesi üzerine çeşitli etkileri vardır. İnsulin böbrek distal tübülleri üzerine direkt etki göstererek sodyum ve su retansiyonuna neden olur. Bu hipergliseminin neden olduğu antinatriüretik etkiye ektir. Hiperglisemi böbrek proksimal tübüllerde sodyum ile birlikte glukozun reabsorbsiyonuna neden olur ve hipokaleminin oluşturduğu hiperinsulinemiyle birliktedir. İnsulinin metabolik etkilerine direnç gelişmiş kişilerde sodyum tutucu etkilerine duyarlılık devam etmektedir. İnsulin ayrıca hücre membranında $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz pompasını uyararak hücre içi sodyum konsantrasyonu yükseltir. Damar düz kas hücrelerinde sodyum konsantrasyonunun artması sitozolik kalsiyum konsantrasyonunun artmasına ve damar kontraktilitesine neden olur. Bu durum artmış periferel vasküler dirence katkıda bulunur. Tip II DM'da hipertansiyon gelişimine neden olur.

Tip II DM ile ilişkili Hipertansiyon (X Sendromu)

Tip I DM'da nefropati ile ilişkili Hipertansiyon

Diabetik Hastalarda rastlantısal olarak gelişen Hipertansiyon

- Esansiyel hipertansiyon
- İzole sistolik hipertansiyon
- Tekrarlayan piyelonefrite nedeniyle oluşan böbrek hasarı

Diabetojenik Antihipertansif ilaçlar:

- Potasyum kaybettirici diüretikler (Klortalidon, yüksek doz tiazidler)
- β -blokerler
- Kombine diüretik ve β -blokerler

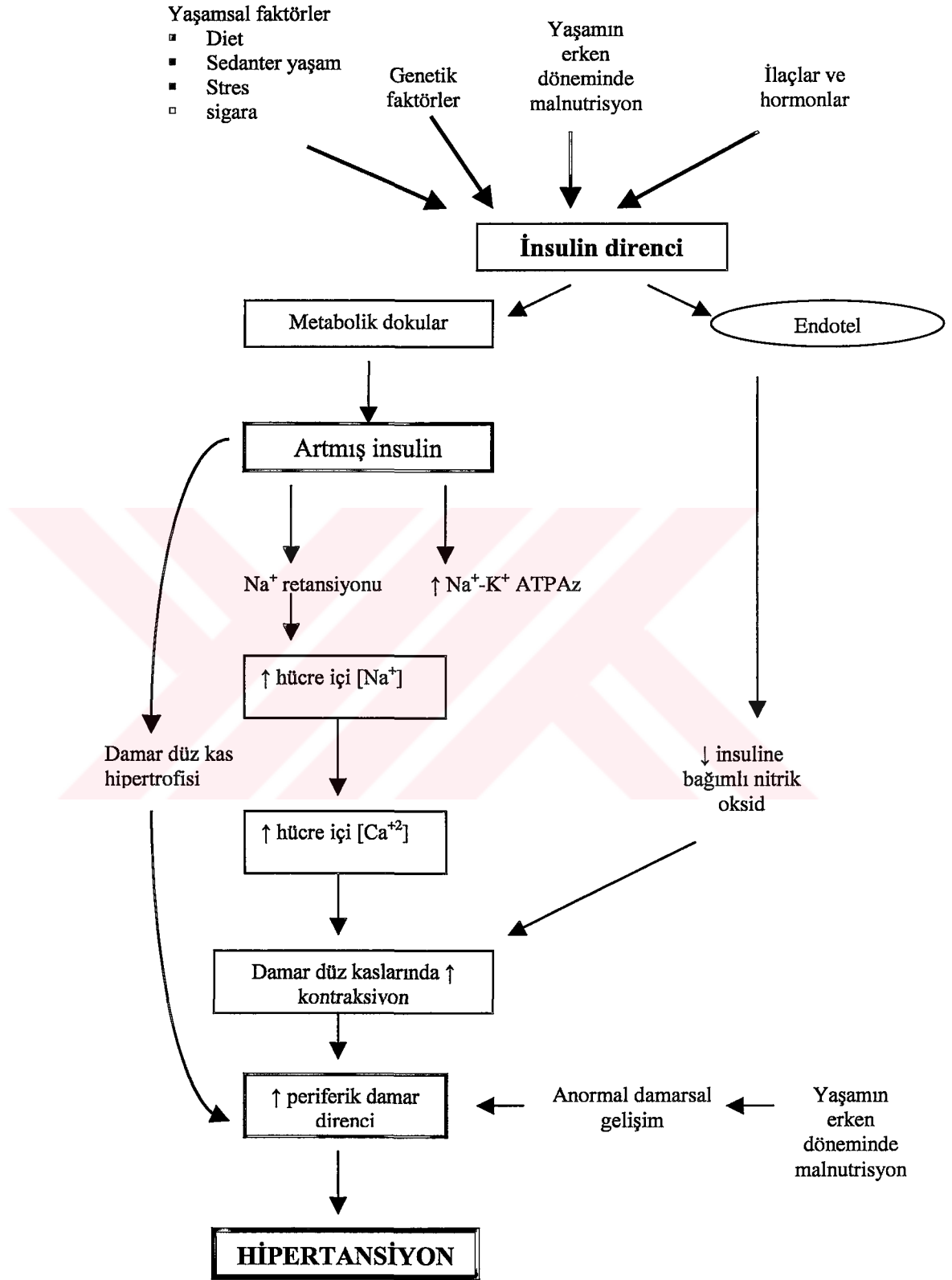
Hem hipertansiyon hem de glukoz intoleransı oluşturan ilaçlar:

- Glukokortikoidler
- Kombine oral kontraseptif preperatlar

Hipertansiyon ve glukoz intoleransı oluşturan endokrinolojik hastalıklar

- Akromegali
- Cushing sendromu
- Conn sendromu
- Feokromasitoma

Tablo 3: Diabetes mellitus ve hipertansiyon arası ilişki



Şekil 14: İnsulin rezistansı olan kişilerde hipertansiyonun patogenezi

İnsulin sempatik sinirlerde iletim hızına etki eder. Bu etkinin mekanizması tam olarak açık değildir. Teorik olarak hiperinsulinemi sempatik aktiviteyi stimüle eder. Deneysel ortamda bu kan basıncını yükseltmez (133). Tip II DM'un erken dönemlerinde dahil olmak üzere hiperinsuliemik durumlarda total vücut sodyum içeriğinde artma olur.

İnsulin hem in vivo hem de invitro insan arter hücre kültürlerinde damar düz kas hücrelerinde proliferasyona neden olur. Arterlerin mediya tabakası hipertrofiye uğrar. Periferik damar direnci yükselir ve hipertansiyon gelişir. İnsulinin endotele bağımlı vazodilatör bir ajan olarak görev yaptığı tespit edilmiştir (134).

İnsulin direnci ile birlikte dislipidemi (yüksek trigliserid, düşük HDL-kolesterol, yüksek small dense LDL-kolesterol konsantrasyonları), trombojenik mekanizmalar (yüksek plazminojen aktivatör-1, hiperfibrinojenemi) ve hiperürisemi gibi kardiyovasküler risk faktörleri de bulunabilir. Glukoz intoleransı gelişmiş olan bir çok hipertansif olguda da bu risk faktörleri ile birliktelik gözlenir (135). Yapılan son çalışmalarda mikroalbuminürik Tip II DM'lu olgularda insulin direncine rastlanmıştır. Fakat normoalbuminüriklerde rastlanmamıştır. Mikroalbuminüri glomerüler hasar ve endotel disfonksiyonu gelişiminde rol oynar (136).

2.5 ANJİOTENSİN II RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ

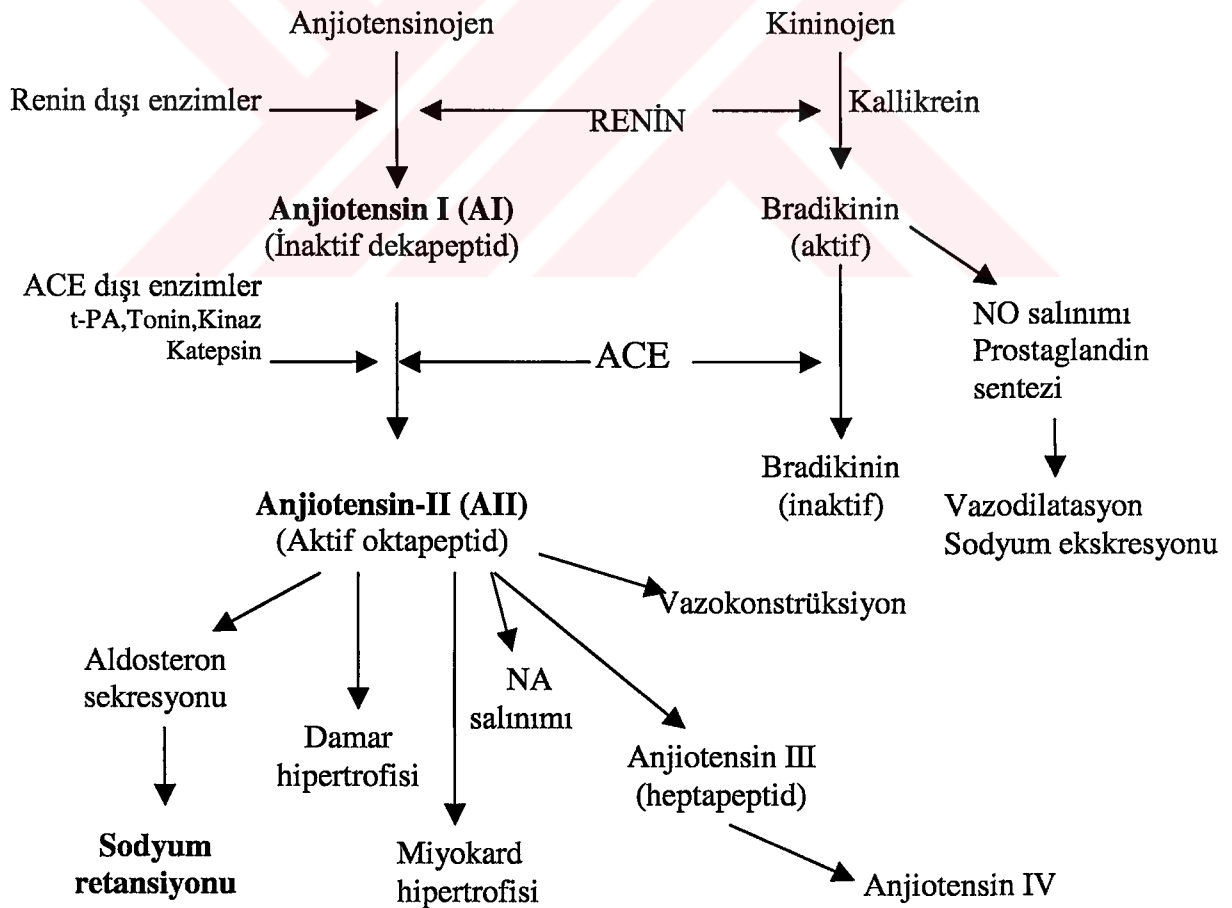
Anjiotensin II renin-anjiotensin-aldosteron sisteminin (RAAS) en önemli mediyatörüdür. Eğer RAAS'nin herhangi bir basamağında bir patoloji meydana gelirse klinik olarak karşımıza hipertansiyon, ateroskleroz, böbrek yetmezliği ve konjestif kalp yetmezliği çıkar. Anjiotensin II (AII) kardiyovasküler sistemde anahtar rolü oynayıp bu hastalıkların fizyopatolojisinde rol oynar.

2.5.1 Renin Anjiotensin Sistemi

Böbreklerden renin ve inaktif prekürsörü olan prorenin birlikte salınır. Renin kana karıştıktan sonra bir glikoprotein olan ve karaciğerde sentezlenen anjiotensinojeni anjiotensine (AI) dönüştürür. Karaciğerden dolaşıma geçen AI, akciğer damarlarının lümenine bakan yüzeyinde endotel hücrelerinde yerleşmiş olan ve bir çinko metalloproteaz olan anjiotensin converting enzim (ACE) tarafından bir oktapeptid olan AII'ye dönüştürülür. Bunun dışında endotel membranına bağlı bu enzimin proteolitik olarak parçalanmasından kaynaklanan suda eriyen plazma ACE biçimi plazmada AI'ı AII'ye hidrolize eder. AII RAS sisteminin en etkili maddesidir (137,138).

AII, kan akımı ile hedef organlarda kendine özgü anjiotensin II reseptörlerine bağlanarak fizyolojik etkilerini yerine getirirler. Renal orijinli plazmadaki klasik RAS'ın yanı sıra dokularda da bulunması sonucu lokal RAS'tan bahsedilmeye başlanmıştır. Ekstresek ve intrasek RAS'tan oluşan iki ayrı sistemin meydana getirdiği AII'nin yalnız sistemik bir hormon (endokrin) değil, aynı zamanda lokal olarak da etki yapan otokrin ve parakrin bir faktör olduğu gösterilmiştir (139,138). AII endopeptidazlar aracılığı ile kan dolaşımında anjiotensin III ve anjiotensin IV'e çevrilerek inaktive olur. ACE AII'yi hidrolize etmesi ve AII oluşturmada çeşitli biyolojik olarak önemli peptidlerin de katabolizmasında görev almaktadır. Örneğin substans P ve bradikininin inaktif metabolitlere çevrilmesini sağlar (138). Alternatif olarak ACE'den bağımsız olarak AII sentezi mevcuttur. Anjiotensinojen direkt olarak doku plazminojen aktivatörü (t-PA), katepsin G ve tonin gibi enzimler ile AII'ye dönüşür. Kimostatine hassas AII oluşturan enzimler, örneğin kimaz ve katepsin G gibi, AII'yi AII'ye dönüşümünü katalize eder (138).

Hangi yolla oluşursa oluşsun sonuçta AII ortak olan son bir basamak ile fizyolojik etkilerini gösterir. AII spesifitesi yüksek olan ve hücre membranında bulunan reseptörüne bağlanır.



Şekil 15: Renin anjiotensin sistemi (RAS). ACE: anjiotensin converting enzim, NO: nitrik oksid, NA: noradrenalin

Kan Basıncının Düzenlenmesinde AII'nin Etkileri

RAS ve onun son mediyatörü AII'nin fizyolojik önemi bilinmektedir. Bu hormon damar tonusunun düzenlenmesinde ve kan basıncının korunmasında önemli bir rol oynar. Miyokardiyumun üzerine direkt pozitif inotropik etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Damar düz kaslarında kontraksiyona neden olur. Direkt pressör bir yanıt oluşturarak, sistemik kan basıncını yükseltir. Vasküler direnci artırır. Kuvvetli vazokonstrüktör bir hormondur. İntrarenal olarak afferent ve efferent damarları kontrakte ederek renal kan akımı ve glomeruler filtrasyon oranını ayarlar. AII sodyum-su reabsorbsiyonunu ve bunların dolaşımında retansiyonunu kolaylaştırır. Beyinde AT1 stimülasyonu ile ADH açığa çıkışını uyarır. Böylece susuzluk refleksi aktive olur. AII sürrenal korteksi ve aldosteronun dolaşıma geçmesini uyarır. Adrenerjik iletiyi kolaylaştırarak sempatik stimülasyon, sürrenal medulladan adrenalin salınımı, arteriyolar vazokonstriksiyon ve kan basıncının regülasyonuna katkıda bulunur (140).

Anjiotensin Reseptörleri

AII farklı dokularda spesifik reseptörleri ile etki eder. AT1 ve AT2 olarak yedi transmembran bölgesine sahip helezon şeklinde iki subgrup reseptörü tanımlanmıştır (141,138). AT1 ve AT2 aynı reseptör ailesine dahil olmalarına rağmen sinyalizasyon yolları ve biyolojik aktiviteleri açısından farklı görevleri vardır (138).

Anjiotensin Tip 1 Reseptörleri

AT1 reseptörleri 359 amino asid içeren G proteini ile bağlanabilen bir reseptör ailesinin üyesidir. AT1 reseptörleri damar düz kas ve endotel hücreleri, damar mediyasında bulunan fibroblastlar, ventrikül, daha az olmak üzere atrium kası, böbrek sürrenal korteks, medulla, karaciğer, uterus adrenerjik sinir uçları, hipotalamus, vagusun dorsal motor nükleusları ve substantia nigra da daha yoğun olmak üzere beyinde yaygın biçimde bulunur (142).

AII, AT1 reseptör aracılığı ile hücre hipertrofisi ve hiperplazisini tetikler. Protein kinaz Cnin ve Ca'un C-fos, C-myc, C-jun gibi tetikleyici büyüme faktörlerinin açığa çıkışına öncülük eder (142). Ayrıca AII kalp miyositlerinde AT1 reseptörlerini uyararak patolojik büyüme ve fonksiyon bozukluğunun artmasına neden olur.

AII'nin kan basıncı ve osmoregülasyon üzerine olan tüm etkileri AT1 reseptörleri üzerinden olur. Bunlar vazokonstriksiyon, aldosteron-vazopressin salınımı, renal tübüllerden sodyum reabsorbsiyonu ve böbrek kan akımını azaltmasıdır.

Kan basıncı ve elektrolit regulasyonu gibi görevlerinin yanı sıra AT1 reseptör stimülasyonu ile hücrel büyüme, damar düz kas hücreleri, kardiyomiyositler ve koroner endotel hücrelerinde stimülasyona neden olmaktadır (138). Bu durumda AT1 reseptörleri kardiyovasküler, renal, serebral bazı hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır. Bu hastalıklar sol ventrikül hipertrofisi, damarın media tabakasında hipertrofi, kardiyak aritmi, ateroskleroz, glomeruloskleroz, strok ve demanstır (138,143). AT1 reseptör blokerleri ile AII'nin etkilerinin inhibisyonu hipertansiyonda veya hipertansiyon ile birlikte olan bazı hastalıklarda yarar sağlar. Örneğin hipertansiyonda ileride gelişebilecek vasküler ve kardiyak hipertrofiyi önler.

Anjiotensin Tip 2 Reseptörleri

AT2 reseptörü 363 aminoasid içeren G proteini ile gevşek bağlı bir glikoproteindir. Yapısındaki aminoasidlerin %34'ü AT1 reseptörü yapısı ile aynı dizilimi gösterir. Daha çok fetal dokularda dağılmış bulunan AT2 reseptörleri, erişkin sürrenal medulla, uterus düz kası, kalp atrium kası, damar endoteli, damar ve kalp kası fibroblastları ve beyinde bazı özel bölgelerde bulunur (138,142).

AII'nin AT2 reseptörlerine olan etkisi tam olarak aydınlatılmamıştır (139,141,144). AT2 reseptörlerinin çeşitli görevleri vardır. Sitoplazmik membran ile ilişkili olan tirozin kinazı inhibe eder. NO yapımını artırır. Guanilat siklaz inhibisyonu yapar. Bradikinin ve cGMP düzeylerini yükseltir. K^+ kanalları üzerine etki eder (145). AT2 reseptör sinyal yolu serin ve tirozin fosfataz, fosfolipaz A₂, nitrik oksid ve cGMP'yi kapsar (138). AT2 reseptörlerinin ekspresyonu bazı patolojik durumlarda artar. Bu durum kalp yetmezliği, postinfarktüs onarımı, cilt ve sinir sistemi lezyonlarında görülür (138,144). Natriüresis ve antiproapoptotik etki meydana gelir.

AII reseptör antagonistleri ile selektif olarak bloke edilen AT1 reseptörlerine AII etki edemez. Böylece AT2 reseptörleri daha fazla uyarılır. AT2 reseptörleri hücre proliferasyonu, hücre differansiyasyon ve gelişimi, anjiogenesis, yara iyileşmesi, doku rejenerasyonu ve hatta apoptoz üzerine yani AT1 reseptörlerinin trofik etkilerine karşı koruyucu etkileri vardır. Damar düz kas hücrelerinde büyüme inhibisyonu ve damar duvarı fibroblastlarındaki kollojen sentezinde azalma meydana gelir (144).

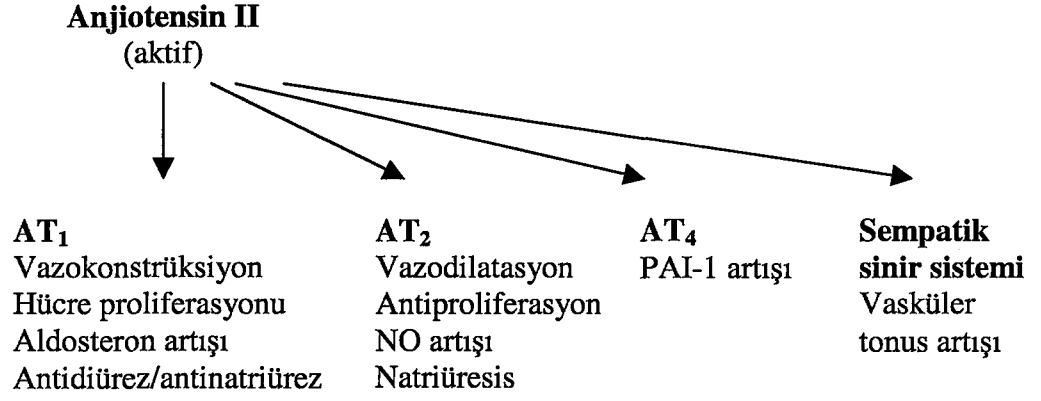
AII ve Hipertansiyon

AII kan basıncının düzenlenmesinde direkt ve indirekt etkileri mevcuttur. Etki ettiği organlar damar düz kası, böbrek, sürrenal bez ve periferik sinir sistemidir. AII güçlü bir vazokonstrüktördür. Kan basıncını vazokonstrüksiyon geliştirerek doğrudan yükseltir. AII böbrek kan akımını, glomerüler filtrasyon hızını, tübüler sodyum ve su geri emilimini ve renin salgılanmasını inhibe ederek böbrek üzerine olan etkisini gösterir. Zona glomerülozayı etkileyerek aldosteron biyosentezini ve sekresyonunu direkt uyarır. Santral sinir sisteminde sempatik aktiviteyi direkt arttırarak kan basıncının artmasına neden olur. Ayrıca dipsojenik bir etki de meydana getirir. Vazopressin ve adrenokortikotrop hormonların salgılanmasını arttırır. Periferik otonom sinir sisteminde sinaptik iletiyi hızlandırır. Sürrenal medulladan katekolamin sekresyonuna neden olur. AII'nin bu çeşitli nöroendokrin etkileri ile kan basıncının yükselmesine ve dolaşım volümünün artmasına neden olur. AII'nin hipertansiyon seyrinde görülen en önemli kardiyovasküler sistem etkileri damar düz kas hücrelerinde hipertrofi, sol ventrikül hipertrofisi ve miyokardiyal fibrosistir.

AII ve Fibrinoliz

Yapılan bir çok çalışmada RAS ve fibrinolitik sistem arasında sıkı bir ilişki olduğu gösterilmiştir. AII'nin endotel hücrelerine bağlanarak PAI-1 üretimini uyardığı deneysel çalışmalarda saptanmıştır (145). AII endojen fibrinolitik sistem aktivitesini azaltarak trombotik bir zemin hazırlar.

Sağlıklı kişilerde yapılan çalışmalarda AII infüzyonlarının PAI-1 düzeyini doza bağımlı olarak arttırdığı gösterilmiştir. AII infüzyonları t-PA konsantrasyonlarını da etkilemektedir. AII subtip reseptörlerinin inhibisyonu ile endotel hücrelerinden PAI-1 üretiminin engellenmediği gösterilmiştir (146). Endoteldeki PAI-1 etkisini düzenleyen reseptörlerin farklı olduğu düşünülmüştür. Son çalışmalar dikkatleri AIV reseptörlerine yöneltmiştir. AIV reseptörleri beyin, kalp ve koroner endotelinde bulunur. Hücre kültüründe PAI-1 artması için anjiotensinin AIV'e dönüşmesi gerekmektedir. AII'nin AIV'e dönüşmesi engellenirse PAI-1 ekspresyonu önlenir (145,146).



Şekil 16: Anjiotensin II'nin fizyolojik etkileri (AT: anjiotensin reseptörleri)

RAS'ın arteriyel hipertansiyonun gelişiminde önemli rolü olması nedeniyle günümüzde hipertansiyon tedavisinde RAS sistemini etkileyen ilaçlar ön plana çıkmıştır.

ACE inhibitörlerinin, deneysel ve klinik çalışmalar sonunda sadece kan basıncını düşürmediği, ayrıca vasküler ve postmiyokardiyal infarktüs remodellingini azalttığı, diabetik nefropatide böbrek fonksiyonlarının koruduğu ortaya konmuştur. ACE inhibitörlerinden bağımsız çalışan doku RAS'larının ACE inhibitörlerinden etkilenmediği de ortaya konmuştur. Antihipertansif ilaç dozunun kanda optimal düzeyde tutulamaması sebebiyle ilaç kullanımına uyum problemleri ortaya çıkmıştır. Kronik ACE inhibitörü kullanan kişilerde %38 oranında yetersiz aldosteron supresyonu, %15 oranında AII reaktivasyonu, tedavi sırasında aşırı bradikinin salınımı, β_2 reseptörü ile protein kinaz C artışı ve buna bağlı β adrenerjik stimulasyon, noradrenalin salınımı ve bradikinin ve noradrenalin geri emilimini engelleme gibi durumlar gözlenmiştir (147). ACE inhibitör tedavisine bu nedenlerden dolayı alternatif tedaviler aranmıştır. AII etkisinin reseptör düzeyinde antagonize edilmesi tedaviye en spesifik ve doğrudan yaklaşım yoludur. AII reseptörlerine karşı geliştirilen antagonistlerin ilki saralazindir. 1995'te losartan ve 1997'de valsartan gibi AII AT1 reseptör antagonistleri bulunmuştur. Daha sonra bu gruba birçok yeni ilaç daha eklenmiştir. Bu ilaçlar SARTAN ailesi olarak adlandırılıp hipertansiyon tedavisinde yeni bir dönem başlatmıştır.

2.5.2 Telmisartan

Nonpeptid yapılı anjiotensin reseptör antagonisti olup oral olarak aktiftir. AII AT1 reseptörlerini selektif olarak bloke eder (148,150).

Yapısı

4'-[[4-metil-6-(1-metil-1H-benzimidazol-2-il)-2-propil-H-benzimidazol-1-il]metil]bifenil-2-karboksilik asid'dir.

Farmakokinetiği

Biyoyararlılığı %43'tür. Telmisartanın peroral kullanımda antihipertansif etkisi yavaş (3 saat) gelişir ve 24 saat devam eder. Etkisi 4-8 haftada maksimuma ulaşır. Önerilen dozu 40 mg/gündür (148). Minimal biyotransformasyona uğrar. İlacın %84'ü plazmada değişmeden kalır. %99'u plazma proteinlerine bağlanır. Ortalama yarılanma ömrü 24 saattir. %98'i gaita geri kalanı ise idrar ile atılır (148).

Telmisartan serum digoksin düzeylerinde artışa neden olur. Warfarin ile birlikteliğinde farmakokinetiği değişmez aksine warfarin plazma konsantrasyonu, plazma koagulasyon parametreleri değişmeksizin belirgin olarak düşer. Baş ağrısı, baş dönmesi, impotans, halsizlik ve öksürük gibi nadir görülen yan etkileri vardır (149).

Telmisartan plazma AII seviyelerinin artmasına ve plazma aldosteron düzeylerinin azalmasına neden olur. ACE'yi bloke etmediği için bradikinin birikmesine bağlı yan etkilere yol açmaz.

Telmisartan kalp hızını etkilemez. Diüretiklerin etkisini güçlendirir. İlaç ani olarak kesilirse rebound etki oluşmaz. Kan basıncı yavaş yavaş yükselir.

Telmisartan diğer sartanlarda olduğu gibi ilaca aşırı duyarlılığı olanlarda, hamilelerde ve laktasyon dönemindeki kadınlarda, safra yollarının obstrüktif hastalıklarında, ağır hepatik ve ağır böbrek yetmezliği hastalarında kullanılmamalıdır.

Telmisartan çift taraflı renal arter darlığına bağlı renovasküler hipertansiyonda, damar içi volüm azalmasında (aşırı diüretik kullanılmasında), RAS'ın devamlı uyarıldığı durumlarda (ağır konjestif kalp yetmezliği), primer hiperaldosteronizmde, aortik ve mitral kapak darlığında, obstrüktif kardiyomiyopatide, hiperpotasemide çok dikkatli kullanılmalıdır.

3. ARAÇ GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1 Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Olgular Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı Hipertansiyon polikliniğine ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Endokrinoloji polikliniğine başvuran kişiler arasından seçildi. Çalışmamıza 18 esansiyel hipertansiyon tanısı alan, 16 regüle tip II diabetes mellitusu olup sonradan hipertansiyon gelişen, 10 regüle tip II diabetes mellituslu normotansif olgu ve 10 sağlıklı kişi katıldı. Olgular Mayıs 2002 ve Ekim 2002 tarihleri arasında toplandı. Çalışmaya alınma ve çalışma dışında bırakılma ölçütleri daha önceden belirlendi. Çalışma grupları daha önce hipertansiyon tedavisi almamış, endotel disfonksiyonuna neden olabilecek başka hastalığı olmayan, diğer önemli bir hastalığı olmayan ve endotel fonksiyonunu etkileyebilecek ilaç kullanmamış hastalardan oluşturuldu.

Grup 1 (Esansiyel hipertansiyonlu grup): Hipertansiyon polikliniğine tansiyon yüksekliği ile ilgili şikayetlerle başvuran, 40 ile 65 yaş arası 4 erkek ve 14 kadın olmak üzere toplam 18 olgudan oluşmuştur.

Olguların hipertansiyon için çalışmaya alınma ölçütleri

1. JNC VI'ya (Joint National Committee) göre evre 1 veya 2 yani hafif ve orta şiddette esansiyel hipertansiyonu (oturarak ortalama diyastolik kan basıncı 90-110 mmHg arasında ve / veya oturarak ortalama sistolik kan basıncı 140-180 mmHg arasında) olan olgular.
2. Yeni hipertansiyon tanısı konulmuş ve ilaç tedavisi olmayan veya yeterli bir ilaç almayan olgular.
3. Cinsiyet: kadın veya erkek (kadınların çalışma süresince fizyolojik olarak çocuk doğurma potansiyeli olmaması, postmenapozal olması veya gebelik testi negatif iken doğum kontrol yöntemi kullanıyor olması.)
4. Yaş : 40-65 yaş arası
5. Hasta uyumu: Çalışmanın gereklerini yerine getireceklerine dair onay vermeye istekli kişiler.

Çalışma dışında bırakılma ölçütleri

1. Emzirme, gebelik veya doğurganlık çağında olan ve güvenilir bir doğum kontrol yöntemi kullanmayan kadın olgular

2. Şiddetli malign, komplike renovasküler veya sekonder hipertansiyon öyküsü
3. Araştırma öncesi 12 hafta içerisinde herhangi yeni veya ruhsatlı araştırma ilacı kullanılması
4. Başka önemli bir hastalık varlığı :
 - a. Çalışmaya girmeden 12 ay içinde miyokard enfarktüsü, koroner by-pass veya koroner anjiyoplasti geçirme
 - b. Klas 2-4 kalp hastalığı
 - c. Çalışmaya girmeden önceki 12 ay içinde önemli serebrovasküler olay veya geçici iskemik atak geçirme
 - d. Klinik olarak önemli veya stabil olmayan kardiyovasküler hastalık (örneğin stabil olmayan anjina pectoris, hipertrofik kardiyomiyopati veya kapak hastalığı)
 - e. Atrial flutter, fibrilasyon, kalp pili olmayan 2. veya 3. derece AV blok gibi hemodinamik olarak önemli ritm bozuklukları veya hasta sinüs sendromu
 - f. Respiratuar, hepatik, renal, gastrointestinal, nörolojik veya hematolojik hastalıklar
 - g. DM, hipotiroidizm, hipertirodizm, primer hiperaldosteronizm gibi metabolik ve endokrin hastalıklar
 - h. Tedavi edilmemiş hipovolemi veya hiponatremi
5. Telmisartan, providon, meglumin; sodyum hidroksit, sorbitol veya magnezyum stearat gibi tablet biçiminde bulunan maddelere karşı hipersensitivite öyküsü

Grup II (Tip II DM'lu ve hipertansiyon gelişmiş grup): Önceden tip II DM tanısı almış, diet veya ilaç tedavisi ile kan glukoz seviyeleri regüle edilmiş, sonradan tansiyon yüksekliği şikayeti ile Endokrinoloji veya Hipertansiyon polikliniğine başvuran, 48 ve 65 yaş arası 9 erkek 7 kadın toplam 16 olgudan oluşmuştur.

Olguların Tip II DM'lu ve hipertansiyon gelişen grup için çalışmaya alınma ölçütleri

1. Önceden Tip II DM tanısı almış olgular (Açlık kan şekeri 140 mg/dl'nin en az 2 defa üstünde veya tokluk kan şekeri 1 defa 200 mg/dl' nin üzerinde veya oral glikoz tolerans testi bozuk). Bu olguların diet veya oral antidiabetik ilaçlar ile regüle edilmiş olması (serum HbA1c oranının %6.9'un altında ölçülmesi)

2. Grup I (esansiyel hipertansiyonlu grup) için uygulanan çalışmaya alınma ölçütleri (Madde 1,2,3,4,5).

Çalışma dışında bırakılma ölçütleri

1. HbA1c oranının %7.0'in üzerinde olması (regüle olmayan olgular)
2. Diabetik ketoasidoz, hiperozmolar nonketotik koma, hipoglisemi gibi akut komplikasyonların varlığı
3. Diabetik nefropati, diabetik retinopati, diabetik nöropati veya diabetik ayak gibi kronik komplikasyonların varlığı
4. Grup I (esansiyel hipertansiyonlu grup) için uygulanan DM haricindeki çalışma dışı bırakılma ölçütleri (madde 1,2,3,4,5).

Grup III (Normotansif Tip II DM grubu): Endokrinoloji polikliniğine başvuran daha önceden tip II DM tanısı almış, ilaç veya diet ile regüle durumda olan ve hipertansiyon gelişmemiş 40 ve 56 yaş arası 3 erkek, 7 kadın toplam 10 kişiden oluşmuştur.

Olguların Normotansif tip II DM grubu için çalışmaya alınma ölçütleri

1. Önceden Tip II DM tanısı almış olgular (Açlık kan glukozu 140 mg/dL'nin en az 2 defa üzerinde veya tokluk kan glukozu 200 mg/dL' nin 1 defa üzerinde veya oral glukoz tolerans testi bozuk). Bu olguların diet veya oral antidiabetik ilaçlar ile regüle edilmiş olması (serum HbA1c seviyeleri %6.9'un altında)
2. Tip II DM'un yanısıra JNC VI'ya göre optimal, normal veya yüksek normal kan basıncına sahip olan kişiler
3. Cinsiyet : kadın veya erkek (kadınların gebe veya emziriyor olmaması)
4. Yaş : 40-65 yaş arası
5. Hasta uyumu: Çalışmanın gereklerini yerine getireceklerine dair onay vermeye istekli kişiler.

Çalışma dışında bırakılma ölçütleri

1. Grup II (Tip II DM'lu ve hipertansiyon gelişen grup) için çalışma dışında bırakılma ölçütleri (Madde 1,2,3,4).

Grup IV (Sağlıklı kontrol grubu): Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya B.D. Laboratuvarında çalışan her hangi bir hastalığı tespit edilmemiş sağlıklı 40 ve 50 yaş arası 5 erkek ve 5 kadın toplam 10 kişiden oluşmuştur.

Kontrol grubu için çalışmaya alınma ölçütleri

1. JNC VI'ya göre optimal, normal veya yüksek normal kan basıncına sahip olan kişiler
2. Her hangi bir sistemik veya lokal bir hastalığı olmayan veya ilaç tedavisi almayan kişiler
3. Cinsiyet: Kadın veya erkek (kadınların gebe ve emziriyor olmaması)
4. Yaş aralığı : 40-65 yaş arası
5. Hasta uyumu: Çalışmanın gereklerini yerine getireceklerine dair onay vermeye istekli kişiler

Çalışma dışında bırakılma ölçütleri

1. Emziren veya gebe kadınlar
2. Malignite, akut veya kronik sistemik bir hastalık öyküsü (renal, kardiyovasküler, respiratuvar, gastrointestinal, nörolojik, hematolojik, endokrinolojik hastalıklar)
3. Araştırmadan 12 hafta önce herhangi bir yeni veya ruhsatlı araştırma ilacı kullananlar

3.2 Çalışmanın Yürütülmesi

Çalışma gruplarından Grup I ve Grup II'ye 12 hafta süre ile anjiotensin reseptör blokeri olan telmisartan 40 mg/gün dozda uygulandı. Olguların ilk geliş, bir ay sonra ve bundan iki ay sonra kontrol olmak üzere üç defa görülmesi planlandı. İlaç öncesi ve ilaçtan 12 hafta sonrası endotel fonksiyonu biyokimyasal testlerle ve brakial arter doppleri ile ölçüldü. Grup III ve Grup IV'e ilaç tedavisi uygulanmadı. Olguların bir kez görülmesi planlandı.

İlk geliş: Çalışmaya alınma ve çalışma dışında bırakılma ölçütleri değerlendirildi. Hasta ve sağlıklı olgular için hazırlanan “Bilgilendirilmiş gönüllü olurları” olgulara okutuldu. Çalışma hakkında bilgi verildi. Gönüllülük esasına dayanarak olurları alındı. Hastalık hikayesi alındı. Kan basıncı ölçümü, ambulator kan basıncı ölçümü, genel fizik bakı, EKG tetkikleri yapıldı. Rutin laboratuvar testleri (SGOT, SGPT, ALP, GGT, LDH, total protein, albümin, globulin, total bilirubin, kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, apoA-1, apoB, açlık kan glukozu, tokluk kan glukozu, HbA1c, üre, ürik asid, kreatinin, hemogram, sedimentasyon, CRP, idrarda mikroalbumin), ileri laboratuvar testleri (paraoksonaz, nitrik

oksid, trombomodulin, sVCAM-1, sPECAM-1, t-PA ve PAI-1) uygulandı. Endotel fonksiyonunun brakiyal arter doppleri ile ölçümü yapıldı. Uygun görülen olgulara ilaç uygulananına başlandı. Grup 3 ve 4 hariç olgular 1 ay sonra kontrole çağırıldı.

Birinci kontrol: Olgular 1 ay sonra kontrole geldiler. Kan basıncı ölçümü, genel fizik bakı, EKG ve gerekli görülen bazı rutin biyokimyasal tetkikler tekrarlandı. Grup I ve grup II'de çalışma ilacına uyum sorgulandı. Varsa yan etkiler değerlendirildi. Olguların çalışmaya devam edip etmemesine karar verildi. Gerekli görülen bazı olgular çalışma dışı bırakıldı.

İkinci kontrol: Üçüncü ay sonunda olgular kontrole çağırıldı. Kan basıncı ölçümü, genel fizik bakı, EKG ve ambulator kan basıncı ölçümleri uygulandı. Rutin laboratuvar testleri (SGOT, SGPT, ALP, GGT, LDH, total protein, albümin, globulin, total bilirubin, kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, apoA-1, apoB, açlık kan glukozu, tokluk kan glukozu, HbA1c, üre, ürik asid, kreatinin, hemogram, sedimentasyon, CRP, idrarda mikroalbumin), ileri laboratuvar testleri (paraoksonaz, nitrik oksid, trombomodulin, SCVAM, PECAM, t-PA ve PAI-1) düzeyleri ölçüldü. Endotel fonksiyonunun brakiyal arter Doppleri ile ölçümü yapıldı. Olgular son bir değerlendirmeye tabi tutularak çalışmaya dahil edilme kriterleri gözden geçirildi ve uyumsuz olgular çalışma dışı bırakıldı.

3.3 Örneklerin Alınması ve Saklanması

Katılması uygun görülen kişilerin olurları alındıktan sonra venöz kan örnekleri alındı. Kan tüpleri hazırlanıp, etiketlendikten sonra antekubital venden standard turnike uygulanarak ilgili tüplere kan toplandı. Kan örnekleri 5000 devir/dakika hızda 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Düz kan tüpünden serum ve EDTA'lı tüpten plazma elde edildikten sonra rutin testler aynı gün çalışılıp diğer testler için örnekler ependorf tüplerine porsiyonlanarak -80°C'de derin dondurucuda saklandı ve 3 ay içerisinde ölçümler yapıldı. Mikroalbumin ölçümü için spot idrar örneği alınıp aynı gün içinde çalışıldı. Bu işlemler ilaç uygulanan birinci ve ikinci gruba tedavi öncesi ve 12 hafta sonra ikinci kontrol zamanında olmak üzere ikişer kez, üçüncü ve dördüncü gruba bir kez uygulandı.

3.4 Cihazlar ve Sarf Malzemeler

- Hassas terazi: Mettler ve Sartorius BP110 S
- pHmetre: Radiometer Copenhagen PHM 92 Lab pHmeter
- Karıştırıcı: Stuart scientific Magnetic Stirrer Hotplate ve MS Minishaker IKA
- Santrifüj: Juan C312 ve Heraeus Sepatech Labofuge 200
- Derin dondurucu: Sanyo Ultra Low (-80°C)
- Otoanalizör: Roche Hitachi 902 automatic analyzer ve Boehringer Mannheim Hitachi 704 automatic analyzer
- ELİSA sistemi: Sanofi Pasteur PR 2100 okuma ünitesi, IPS Sanofi Pasteur inkübasyon ünitesi, Sanofi Pasteur PW400 yıkama ünitesi
- HP 2500 ultrasonografi aygıtı, 7.5 MHz periferik prob
- Spacelabs 90217 Uralite model ambulatuvar kan basıncı Holteri
- Çeşitli boyutta balon joje, erlen mayer, mezür: Brand, Şişe cam, Pyrex
- Cam pipetler 10 ml, 5 ml, 2 ml: Brand
- Otomatik pipetler: Gilson pipetman F 10 µl, HTL high tec lab V3 serisi 200-1000 µl, Biohit 100 µl proline pipet
- Vakumlu kan tübü: Pıhtı aktivatörlü-9 ml, %3.2 Na sitratlı-4 ml, Lityum heparinli-4 ml, EDTA K3'lu-3 ml, %3.8 Na sitratlı-2,9 ml, Vacuette®, Greiner Labortechnik GmbH
- Çeşitli boyutlarda polipropilen tüp standları
- Ependorf serum / plazma örnek saklama tüpleri

3.5 Hazır kitler

- Human t-PA (human tissue-type plasminogen activator) ELISA kiti, katalog no: BMS258, Bender MedSystems™, MedSystems™ Diagnostics GmbH, Rennweg 95b A-1030 Vienna, Austria
- Human sVCAM-1 (human soluble vascular cell adhesion molecule-1) ELISA kiti, katalog no: BMS232, Bender MedSystems™, MedSystems™ Diagnostics GmbH, Rennweg 95b A-1030 Vienna, Austria
- Human sPECAM-1 (human soluble platelet endothelial cell adhesion molecule-1) ELISA kiti, katalog no: BMS229, Bender MedSystems™, MedSystems™ Diagnostics GmbH, Rennweg 95b A-1030 Vienna, Austria

- PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor) ELISA kiti, katalog no: TC1207(11/2001), Tecnoclone®, Brunner Straße 59/5, A-1230 Vienna/Wien, Austria.
- Human CD141 (Thrombomodulin) ELISA kiti, katalog no: DKH 720, Euroclone®, Vi 28, Victoria street, Paington-Devon TQ4 5DN, United Kingdom
- Mikroalbumin kit, immunoturbidimetrik kit, katalog no: A00528, Dialab, Dialab produktion und vertrieb von chemisch- technischen produkten und laborinstrumenten, GmbH Wien, Austria

3.6 Paraoksonaz ölçümünde kullanılan madde ve çözeltiler

- NaOH, Carlo Erba Reagenti, 1310-73-2 } Glisin- Na glisinat tampon, 0.1 M, pH:11.2
- Glisin, Sigma, G7126 } Glisin- Na glisinat tampon, 0.05 M, pH:10.5
- Dietil-p-nitrofenil fosfat (paraokson), Sigma, D9286
- Tris, Merck, 1.08387 } Tris HCl, 0.05 M, pH:7.7
- HCl, Merck, 1.00317 }
- Aseton, Riedel-deHaen, 24201

3.7 Nitrat ölçümünde kullanılan madde ve çözeltiler

- Nitrat redüktaz (Aspergillus türü), Sigma, N7265, 500 U/L
- FAD, Sigma, 6625, 0.2 mM
- β NADPH, Sigma, N1630, 12 mM
- Sodyum nitrat, Merck, 6535
- Potasyum dihidrojen fosfat, Merck, 104873 } Fosfat tampon, 100 mM, pH=7.5
- Dipotasyum hidrojen fosfat, Merck, 5104 }

3.8 Çalışmada Kullanılan Laboratuvar Yöntemleri

3.8.1 Örneklerin Çalışılmaya Hazırlanması

Çalışma grubundaki olguların örnekleri derin dondurucudan çıkarıldı. Oda sıcaklığında yaklaşık 20 dakika çözünmesi beklendi. Bu sırada aralıklı olarak örnek tüpleri alt-üst edilerek homojen dağılım sağlandı. Örnekler tamamen çözündükten sonra çalışmaya hazır hale geldi. Serum örneklerinden sPECAM-1, sVCAM-1, trombomodulin, t-PA, nitrat, paraoksonaz, EDTA'lı plazma örneklerinden PAI-1 çalışıldı.

3.8.2 Human solübl Trombosit Endoteliyal Hücre Adezyon Molekülü-1 (sPECAM-1) ölçümü

Yöntem: ELISA

Mikroküvetler anti-PECAM-1 monoklonal antikorlar ile kaplıdır. Örnekte veya standartta bulunan sPECAM-1 mikroküvetlerdeki antikorlara bağlanır. Eklenen HRP- (hoarseradish peroksidaz) konjugat ilk antikorlar tarafından tutulmuş sPECAM-1 antijenlerine bağlanır. İnkübasyon sonrasında yapılan yıkama ile bağlanmamış HRP konjugatlar uzaklaştırılır. HRP ile reaksiyona girecek substrat solusyonu küvetlere eklenir. Örnekteki sPECAM-1 miktarı ile orantılı renkli ürün oluşur. Reaksiyon mikroküvetlere fosforik asid eklenerek sonlandırılır. 450 nm'de absorbands ölçülür. 7 adet farklı konsantrasyonlarda sPECAM-1 standardı kullanarak standard eğrisi çizilir ve örneklerin sPECAM-1 konsantrasyonu elde edilir.

Ölçüm aralığı: 0.1- 30 ng/mL

Örnek dilüsyon oranı: 1/10

3.8.3 Human solübl Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 (VCAM-1) ölçümü

Yöntem: ELISA

Mikroküvetler anti-sVCAM-1 monoklonal antikorlar ile kaplıdır. Örnek veya standartlarda bulunan sVCAM-1 mikroküvetlerin içini kaplayan antikorlara bağlanır. Biotin ile konjuge edilmiş monoklonal anti-sVCAM-1 antikor ve streptavidin HRP karışımı mikroküvetlere eklenir. Biotin ile konjuge edilmiş anti-sVCAM-1 antikor, anti-sVCAM antikor ile yakalanmış sVCAM-1'e bağlanır. Streptavidin-HRP, biotin ile konjuge edilmiş anti-sVCAM-1 ile bağlanır. İnkübasyon sonrasında yıkama ile sVCAM-1 ile bağlanmamış olan biotin ile konjuge edilmiş monoklonal anti-sVCAM-1 antikor ve streptavidin HRP ortamdan uzaklaştırılır. HRP ile reaksiyona girebilen substrat solusyonu eklenir. Örnekteki sVCAM-1 miktarı ile orantılı renkli ürün oluşur. Reaksiyon mikroküvetlere fosforik asid eklenerek sonlandırılır. 450 nm'de absorbands ölçülür. 6 adet sVCAM-1 standardı kullanılarak çizilen standard eğrisine göre örneklerin sVCAM-1 konsantrasyonu elde edilir.

Ölçüm aralığı:0.9-100 ng/mL

Örnek dilüsyon oranı:1/50

3.8.4 Human doku plazminojen aktivatör (t-PA) ölçümü

Yöntem: ELISA

Mikroküvetler anti-t-PA poliklonal antikorları ile kaplıdır. Örnek ve standartlardaki t-PA mikroküvetlerin içini kaplayan anti-t-PA antikorları ile bağlanır. Mikroküvetlere eklenen HRP konjugatlı monoklonal anti-t-PA antikoru, ilk antikorlar ile yakalanan t-PA'lara bağlanır. İnkübasyon sonrasında yıkama basamağı ile bağlanmamış HRP konjugatlı anti-t-PA ortamdan uzaklaştırılır. HRP solusyonu ile reaksiyona girecek substrat solusyonu mikroküvetlere eklenir. Örnekteki t-PA miktarı ile orantılı renkli ürün oluşur. Reaksiyon mikroküvetlere fosforik asid eklenerek sonlandırılır. 450 nm'de absorbans ölçülür. 7 adet t-PA standardıyla standard eğrisinden çizilen örnek t-PA konsantrasyonu elde edilir.

Ölçüm aralığı: 8-1000 pg/mL

Örnek dilüsyon oranı:1/10

3.8.5 Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) ölçümü

Yöntem: ELISA

Mikroküvetler anti-PAI-1 antikorları ile kaplıdır. Örnek ve standartlardaki PAI-1 mikroküvetlerin içini kaplayan anti-PAI-1 antikorları ile bağlanır. Mikroküvetlere eklenen POX (peroksidaz) konjugatlı antiPAI-1 antikoru, PAI-1-antiPAI-1 kompleksindeki PAI-1'lere bağlanır. İnkübasyon sonrasında yıkama basamağı ile bağlanmamış POX konjugatlı anti-PAI-1 ortamdan uzaklaştırılır. Mikroküvetlere POX konjugatı ile reaksiyona girecek substrat solusyonu ABST (2-2'Azinobis 3-etilbenz-thiazolinsulfonik asid) eklenir. Örnekteki PAI-1 miktarı ile orantılı renkli ürün oluşur. Reaksiyon mikroküvetlere sodyum florid eklenerek sonlandırılır. 405 nm'de absorbans ölçülür. 5 adet PAI-1 standardıyla çizilen standard eğrisinden örnek PAI-1 konsantrasyonu elde edilir.

Ölçüm aralığı: 1.5-25 ng/mL

Örnek dilüsyon oranı: 1/4

3.8.6 Trombomodulin (CD141) ölçümü

Yöntem: ELISA

Mikroküvetler anti-sCD141 monoklonal antikorları ile kaplıdır. Örnek veya standartlar mikroküvetlere pipetlenir. Örnek ve standartlardaki sCD141 mikroküvetlerin içini kaplayan anti-sCD141 antikorları ile bağlanır. İlk inkübasyon sırasında sCD-141 antijeni ve biotinlenmiş monoklonal antikorlar aynı zamanda inkübe edilir. Yıkama sonrasında enzim streptavidin-peroksidaz eklenir. İnkübasyon ve yıkama yenilenir. Bağlanmamış tüm

streptavidin-peroksidazlar ortamdan uzaklaştırılır. Substrat solusyonu eklenerek örnekteki trombomodulin miktarı ile orantılı renkli ürün oluşur. Reaksiyon sülfirik asid ile durdurulur. 450 nm’de absorbans ölçülür. 6 standard ile çizilen standard eğrisinden örnek trombomodulin konsantrasyonları elde edilir.

Ölçüm aralığı:0.380-20 ng/mL

Örnekler dilüsyonsuz çalışıldı.

3.8.7 Mikroalbuminüri ölçümü

Yöntem: immünoturbidimetri

İdrar örneğinde bulunan albumin antijeni antialbumin antikorları ile birleşir. Kompleks oluşumu PEG (polietilen glikol) ile artırılır. Oluşan antijen antikor kompleksi turbidimetrik olarak ölçülür. Ölçüm Hitachi 704 otomatik analizörde yapıldı. Sonuçlar mg/ kreatinin olarak verildi.

Ölçüm aralığı:0-400 mg/L

3.8.8 Nitrat ölçümü

Serumda nitrat tayini aspergillus türünden elde edilen nitrat redüktaz ile enzimatik endpoint olarak ölçülür (151). Bu yöntemle enzimatik dönüşüm sonucu oluşan nitrit Griess ile ölçülmemekte, direkt olarak enzim varlığında β NADPH oksidasyonuna bağlı 340 nm’de absorbanstaki azalma 8,5. dakikada ölçülmektedir. FAD ise suplementer elektron taşıyıcısı olarak kullanılır. Serum nitratı Hitachi 902 otomatik analizörde 100 μ mol/L’lik sodyum nitrat standardı ile kalibrasyon yapılarak ve 25 ve 50 μ mol/L iki seviyeli sodyum nitrat ile kontrol alınarak çalışıldı.

R₁: 100 mM fosfat tampon (pH:7,5) 35 mL

Distile su 7 mL

0,2 mM FAD 7 mL

12 mM β NADPH 1,4 mL

R₂: 500 U/L nitrat redüktaz

Serum (50 μ L)	
R ₁	(200 μ L)
R ₂	(25 μ L)

3.8.9 Paraoksonaz ölçümü

Serumda bulunan paraoksonaz, substratı olan paraoksonu paranitrofenol ve dietil fosforik aside dönüştürür. Oluşan paranitrofenolün 405 nm’de absorbansı kinetik olarak ölçülür (152). Test Hitachi 704 otomatik analizörde reaktif kör kalibrasyonu yapılarak ve paranitrofenolün ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplanan faktör ile sonuçlar hesaplanarak çalışıldı. Absorbans ölçümleri substrat (R₂) eklendikten 80 saniye sonra başlatıldı ve 80 saniye boyunca her 20 saniyede bir yapıldı.

1 dakikada oluşan 1µmol paranitrofenol 1U serum paraoksonaz aktivitesi olarak kabul edildi.

R₁: Ölçüm tamponu: 0,1 M glisin-Na glisinat tampon pH:11,2

R₂: Substrat ölçüm solusyonu: Substrat stok solusyonu (1 mL paraokson ve 38.6 mL aseton) 10 defa 0,05 M Tris HCl pH=7.7 ile sulandırılır. Sonra eşit miktarda 0,05 M glisin-Na glisinat tampon pH:10,5 ile karıştırılır.

Serum	18 µL
R ₁ (ölçüm tamponu)	310 µL
R ₂ (substrat ölçüm solusyonu)	100 µL

$$\text{Faktör} = (V_T \times 10^3) / (\epsilon \times I \times V_S) = (0,428 \times 10^3) / (18.05 \times 0,6 \times 0.018) = 2195$$

ϵ = p-nitrofenolün glisin-NaOH tamponda (pH:11.2) ekstinksiyon katsayısı (cm²/µmol)

I = okuma küvetinin ışık yolu (cm)

V_T = total volüm (mL)

V_S = örnek volümü (mL)

10³ = mL’yi L’ye çevirme katsayısı

3.9 Brakiyal Arterde Akıma Bağlı Vazodilatasyon (ABVD) Ölçümü

Hastalar 12 saat aç olarak, yarım veya bir saat istirahatten sonra ölçüme alındılar. Hastalar bu sürede sigara içmediler.

ABVD ölçümü her 4 gruba (birinci ve ikinci gruba ilaç öncesi ve sonrası) brakiyal arterde dirsekten 2-10 cm proksimalde, HP 2500 ultrasonografi aygıtı ile ve 7.5 MHz periferik prob kullanılarak yapıldı. Olguların bazal brakiyal arter çapı kaydedildikten sonra manşon 5 dakika süreyle şişirildi. Manşonun söndürülmesinin ardından 90. saniyede alınan ölçümler hiperemik faz sonuçları olarak kaydedildi. Bazal çap ile hiperemik faz sonunda alınan brakiyal arter çapı arasındaki farkın yüzde olarak hesaplanması ile akıma bağlı dilatasyon (ABD) saptandı.

7.5 MHz lineer periferik prob ile brakiyal arter longitudinal olarak antekubital fossanın 2-10 cm proksimalinde incelendi. Transdüzer çalışma boyunca sabit tutuldu. Lümen arter duvarı arasındaki sınır için gerekli ekokardiyografik parametreler (gain) çalışma boyunca değiştirilmedi. Başlangıç istirahat bazal B-mode ölçümlerden sonra tansiyon aleti manşonu 1 dakika şişirildi. Üst kolda şişirilen tansiyon manşonu yardımı ile distale olan brakiyel kan akımı engellendi ve basınç 200 mmHg' da 4 dakika sabitlendi. Video kaydı VHS kasete sürekli olarak yapıldı. 4. dakika sonrasında manşon söndürülüp akımlar 5 dakika süre ile tekrar kaydedildi. Hastanın kolu ile prob arasındaki açının bozulmamasına önem verildi. 10. dakikada verilen sublingual nitrogliserin sonrası 14. dakikada endotel bağımlı olmayan dilatasyonun değerlendirilmesi yapıldı. Hastalara endotel fonksiyonuna olumlu etkileri bilinen antioksidan vitaminler çalışma boyunca verilmedi.

3.10 Ambulatuvar Kan Basıncı Ölçümü (AKBÖ)

Her hasta grubunda çalışmaya alınmadan önce ve çalışma sonunda 3. ayda AKBÖ yapılmıştır. Ölçümler için Spacelabs 90217 Uralite model ambulatuvar kan basıncı Holteri kullanıldı. Aygıt sabah 10.00 civarında hastaların sağ koluna uygun manşonla takıldı. Hastalara işlem hakkında bilgi verildi. Gündüz saatlerinde 30 dakika, gece saatlerinde 60 dakika aralarla kan basıncı ve nabız ölçümleri otomatik olarak yapıldı. Veriler hafızaya kaydedildi. 24 saat sonra aygıt hastadan çıkarılarak özel bilgisayar programında analiz edildi. Analiz sonucunda: sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı, ortalama kan basıncı ve kalp hızının minimum, maksimum ve ortalamaları, standart sapmaları, tüm gün, gündüz ve gece değerleri ayrı ayrı hesaplandı.

3.11 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel hesaplamalar SPSS (10.0 versiyon) ile yapıldı.

İkiden fazla bağımsız grubu karşılaştırmada (hipertansif grup ilaç öncesi, diabetik hipertansif grup ilaç öncesi, normotansif grup ve sağlıklı kontrol grup) önce Kruskal Wallis Varyans Analizi yapıldı. Bu testin anlamlı sonuç vermesi durumunda grupların ikili karşılaştırması için Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Eşli grupların (hipertansif grup ilaç öncesi ile ilaç sonrası ve diabetik hipertansif grup ilaç öncesi ile ilaç sonrası) karşılaştırılması için Wilcoxon- Signed- Rank testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1 Grupların Demografik Verileri

Çalışmaya katılan olguların ve sağlıklı kontrollerin yaş, vücut kitle indeksi ortanca (kuartil değerler), ortalama $\pm$ standard sapma değerleri ve sigara kullanım oranları tablo 4’da verilmiştir.

Gruplar	Yaş		BMI		Sigara
	Ortanca (kuartil değerler)	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca (kuartil değerler)	Ortalama $\pm$ SS	Yüzde oran
Hipertansifler ilaç öncesi (n=18)	52 (45-56)	51.77 $\pm$ 7.35	28.14 (25.9-29.9)	27.65 $\pm$ 3.13	%5.55
Diabetik hipertansifler ilaç öncesi (n=16)	52 (50-58)	53.81 $\pm$ 5.62	27.43 (23.6-30.1)	27.05 $\pm$ 3.4	%12.5
Diabetik normotansifler (n=10)	53 (46-59)	53.2 $\pm$ 7.06	26.34 (25.13-27.34)	26.24 $\pm$ 1.25	%10
Sağlıklı kontroller (n=10)	43 (40-46)	43.6 $\pm$ 3.23	21.77 (19.72-25.40)	22.48 $\pm$ 3.5	%10

Tablo 4: Gruplara göre yaş, BMI (vücut kitle indeksi), sigara verileri

4.2 Grupların Laboratuvar Verileri

Çalışmaya katılan olguların ve sağlıklı kişilerin sistolik kan basıncı (SKB), diastolik kan basıncı (DKB), mikroalbuminüri (MAU), paraoksonaz (PON), nitrat (NO₃), doku plazminojen aktivatörü (t-PA), plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), trombomodulin (TM), trombosit endotelial hücre adezyon molekülü (PECAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1) ortanca, kuartil, ortalama $\pm$ standard sapma değerleri tablo 5’de verilmiştir.

Parametre	Hipertansifler (n=18)				Diabetik hipertansifler (n=16)				Diabetik normotansifler (n=10)		Sağlıklı kontroller (n=10)	
	İlaç öncesi		İlaç sonrası		İlaç öncesi		İlaç sonrası		Ortanca (kuartil değerler)	Ort±SS	Ortanca (kuartil değerler)	Ort±SS
	Ortanca (kuartil değerler)	Ort±SS	Ortanca (kuartil değerler)	Ort±SS	Ortanca (kuartil değerler)	Ort±SS	Ortanca (kuartil değerler)	Ort±SS				
SKB	150.0*** (140.0-155.0)	147.06 ±14.04	125.0§§§ (120.0-130.0)	125.88 ±9.22	157.5***,†††,§ (150.0-160.0)	158.12 ±12.36	130.0*** (120.0-135.0)	127.5 ±9.66	110.0 (98.75-116.25)	108.5 ±10.28	110.0 (106.25-121.25)	103.2 ±33.23
DKB	75.0* (72.5-82.5)	78.41 ±8.63	74.0 (68.0-83.0)	75.35 ±10.08	80.0*,† (73.25-84.0)	79.0 ±7.62	71.0* (67.0-77.0)	71.53 ±6.30	70.0 (65.0-78.75)	70.62 ±7.28	70.0 (67.5-75.0)	70.55 ±3.90
	9.38 (3.60-15.24)	9.96 ±6.70	10.13 (7.26-17.55)	12.19 ±7.65	6.41 (5.18-11.20)	7.73 ±3.99	8.04 (6.81-8.78)	8.59 ±3.14	17.32 (12.45-19.14)	15.42 ±4.64	20.15 (16.79-23.63)	19.51 ±5.07
NBD	13.77 (11.96-23.07)	16.73 ±7.89	14.77 (9.21-21.27)	15.23 ±7.53	10.66 (8.09-15.06)	11.42 ±4.18	16.01 (13.08-25.61)	19.86 ±9.35	10.58 (9.86-14.18)	11.49 ±3.96	16.30 (11.59-25.85)	18.06 ±8.87
NO ₃	40.10 (19.85-51.28)	40.08 ±26.13	29.60 (21.46-40.03)	41.09 ±33.50	10.02***,†††,§§§ (1.73-12.63)	12.35 ±19.49	10.77 (5.11-23.30)	20.58 ±25.35	27.55 (24.53-34.35)	29.99 ±8.80	41.50 (31.93-55.80)	50.58 ±25.35
MAU	6.65* (3.99-16.75)	26.29 ±53.60	4.27 (2.99-7.22)	5.63 ±4.87	9.71** (5.30-23.75)	74.77 ±159.16	9.90 (6.40-26.18)	60.24 ±128.4	6.73** (5.40-7.65)	9.23 ±6.18	3.50 (2.16-3.50)	3.68 ±1.81
PON	161.0 (139.5-218.5)	182.38 ±61.30	199.5§ (175.3-256)	211.50 ±65.19	139.0***,§ (122-154.3)	135.62 ±24.61	139.0* (122-154.3)	135.62 ±24.61	155.0 (138.6-164.5)	149.25 ±18.8	169.0 (157.3-179.8)	170.70 ±24.0

Tablo 5: Grupların SKB (sistolik kan basıncı, mmHg), DKB (diastolik kan basıncı, mmHg), ABVD (akıma bağlı vazodilatasyon, %), nitrogliserine bağlı dilatasyon, %), MAU (mikroalbuminüri, mg/g kreatinin), PON (paraoksonaz, U/L), NO₃ (nitrat, mg/dL) değerleri
Sağlıklı kontrollerle göre fark; * : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001
Diabetik normotansiflerle göre fark; † : p<0.05, ††† : p<0.001
Hipertansifler ilaç öncesine göre fark; § : p<0.05, §§§ : p<0.001
Diabetik hipertansifler ilaç öncesine göre fark; † : p<0.05, ††† : p<0.001

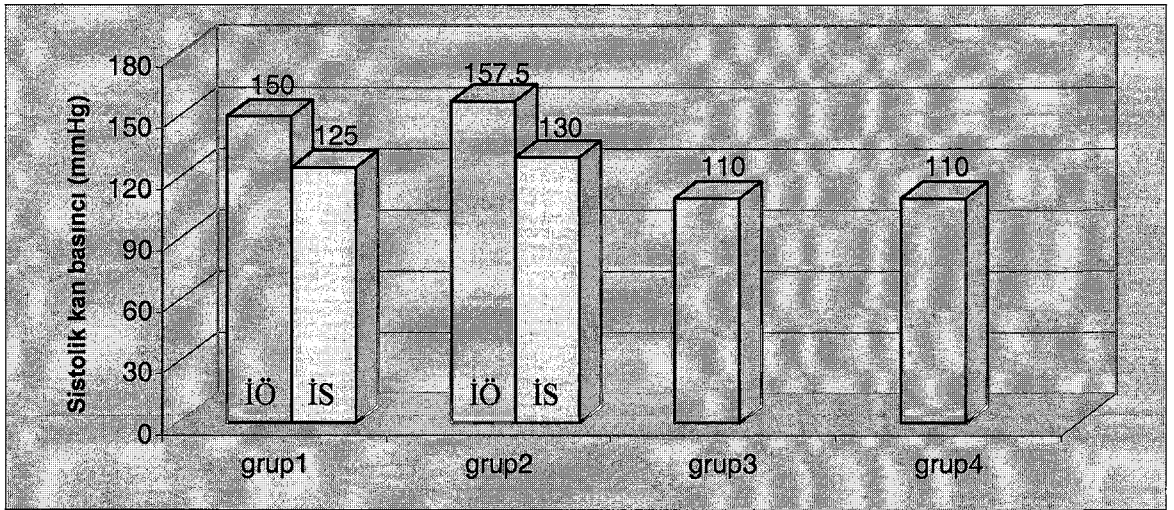
Parametre	Hipertansifler (n=18)			Diabetik hipertansifler (n=16)			Diabetik normotansifler (n=10)		Sağlıklı kontroller (n=10)	
	İlaç öncesi		İlaç sonrası	İlaç öncesi		İlaç sonrası	Diabetik normotansifler (n=10)		Sağlıklı kontroller (n=10)	
	Ortanca (kuartil değerler)	Ort±SS		Ortanca (kuartil değerler)	Ort±SS		Ortanca (kuartil değerler)	Ort±SS	Ortanca (kuartil değerler)	Ort±SS
t-PA	2468.10 (1811.21-3296.73)	2576.44 ±920.79	5477.17 ^{§§§} (4583.27-7156.2)	2760.05 (2081.7-3425.5)	2746.10 ±829.06	5598.81 ⁺⁺⁺ (4197.8-6882.5)	2185.39 (703.11-4701.25)	2861.24 ±2759.39	2714.26 (2429.5-2792.26)	2714.77 ±870.84
PAI-1	199.58 ^{***} (151.40-257.21)	197.45 ±88.05	218.59 (177.33-297.53)	136.61 ^{***} (102.58-195.73)	156.06 ±76.36	119.24 (82.88-183.42)	46.92 ^{***} (87.67-170.14)	131.41 ±57.59	42.57 (15.60-72.39)	43.17 ±30.50
TM	4.00 (3.30-4.78)	4.35 ±1.55	4.04 (3.40-5.24)	4.08 (3.38-5.42)	4.62 ±1.64	4.72 ⁺ (4.25-5.83)	4.45 (4.02-4.64)	4.31 ±0.55	4.45 (2.98-5.16)	4.30 ±1.44
PECAM-1	54.83 (47.32-60.75)	56.06 ±9.86	55.92 (48.30-61.11)	47.51 (41.16-54.09)	48.55 ±9.80	46.92 (40.68-50.38)	46.92 (37.91-52.46)	59.66 ±36.39	42.63 (37.22-52.92)	45.81 ±12.56
VCAM-1	825.0 (583.03-1211.03)	940.62 ±451.45	794.13 (719.24-1123.98)	747.0 (460.15-975.33)	719.73 ±295.55	766.37 ⁺ (586.95-1006.17)	962.07 (887.17-1094.38)	933.32 ±230.16	419.42 (176.30-1236.80)	792.90 ±863.61

Tablo 5 (devam): Grupların t-PA (doku plazminojen aktivatörü, pg/mL), PAI-1 (plazminojen aktivatör inhibitör-1, ng/mL), TM (trombomodulin, ng/mL), PECAM-1 (trombosit endotelial hücre adezyon moleküllü-1, ng/mL), VCAM-1 (vasküler hücre adezyon moleküllü, ng/mL) değerleri Sağlıklı kontroller göre fark; ^{***}: p<0.001 Hipertansifler ilaç öncesine göre fark; ^{§§§}: p<0.001 Diabetik hipertansifler ilaç öncesine göre fark; ⁺: p<0.05

4.3 Sistolik Kan Basıncı

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontrol gruplarının holter sistolik kan basıncı ortalama değerlerinin toplu karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmasından ($p<0.001$) sonra, grupların ikili karşılaştırmalarında aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

- Sağlıklı kontrollere göre hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı yüksek olduğu saptandı ($p<0.001$).
- Sağlıklı kontrollere göre diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri diabetik normotansiflere göre anlamlı yüksek saptandı ($p<0.001$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerine göre anlamlı yüksek saptandı ($p=0.024$).
- Diabetik normotansifler ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.670$).
- Hipertansiflerin ilaç sonrası değerlerinin ilaç öncesine göre anlamlı düştüğü saptandı ($p<0.001$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç sonrası değerlerinin ilaç öncesine göre anlamlı düştüğü saptandı ($p<0.001$).

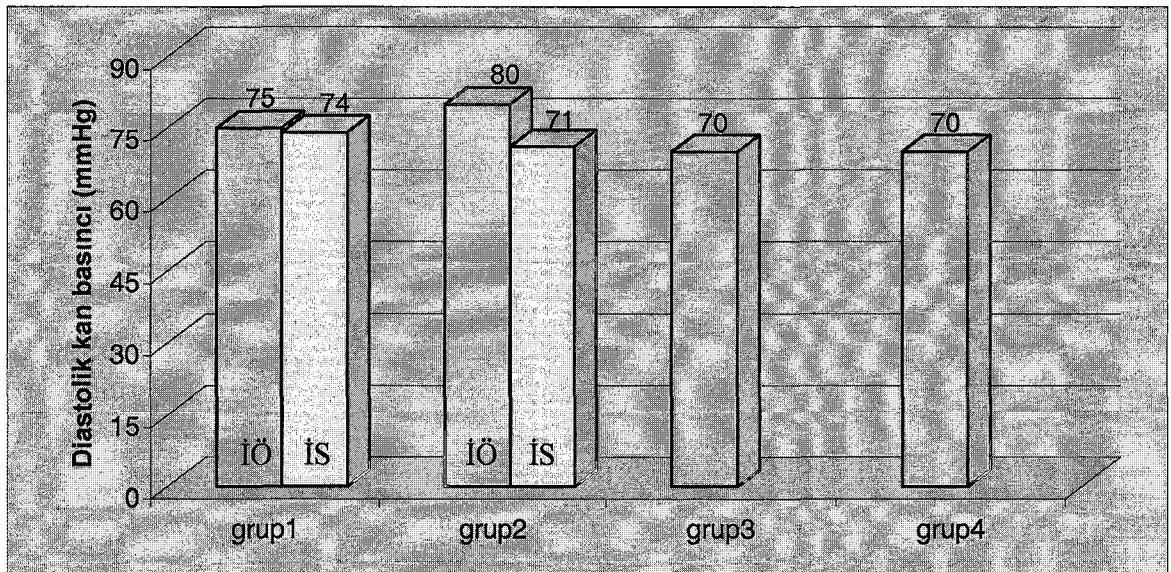


Grafik 1: Sistolik kan basıncı ortanca değerleri (mmHg), grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, İÖ: ilaç öncesi , İS: ilaç sonrası.

4.4 Diastolik Kan Basıncı

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontrol gruplarının holter diastolik kan basıncı ortalama değerlerinin toplu karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmasından ($p<0.009$) sonra, grupların ikili karşılaştırmalarında aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

- Sağlıklı kontrollere göre hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı yüksek olduğu saptandı ($p=0.020$).
- Sağlıklı kontrollere göre diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı yüksek olduğu görüldü ($p=0.004$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri diabetik normotansiflere göre anlamlı yüksek saptandı ($p=0.020$).
- Hipertansifler ile diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.516$).
- Diabetik normotansifler ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.960$).
- Hipertansiflerin ilaç öncesi ve ilaç sonrası değerler arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0.097$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç sonrası değerlerinin ilaç öncesine göre anlamlı olarak düştüğü saptandı ($p=0.020$).

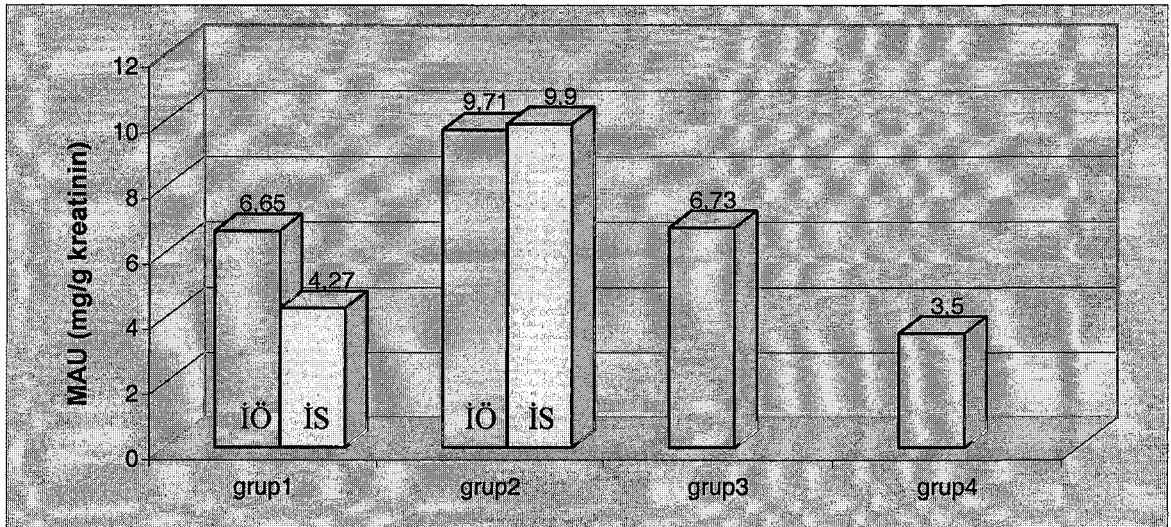


Grafik 2: Grupların diastolik kan basıncı ortalama değerleri (mmHg), grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, İÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

4.5 Mikroalbuminüri (MAU)

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontrol gruplarının mikroalbuminüri değerlerinin toplu karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmasından ($p=0.0303$) sonra, grupların ikili karşılaştırmalarında aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

- Sağlıklı kontrollere göre hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı yüksek olduğu saptandı ($p=0.012$).
- Sağlıklı kontrollere göre diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı yüksek olduğu görüldü ($p=0.006$).
- Diabetik normotansifler ile diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.208$).
- Hipertansifler ile diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.198$).
- Sağlıklı kontrollere göre diabetik normotansiflerin değerleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.004$).
- Hipertansiflerin ilaç öncesi ve ilaç sonrası değerler arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0.084$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi ve ilaç sonrası değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.110$).

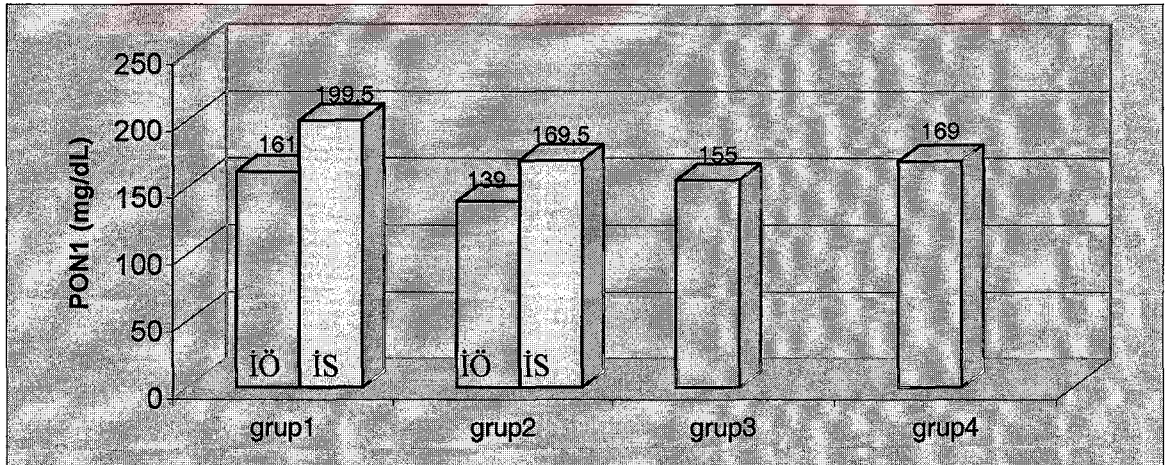


Grafik 3: Grupların MAU ortalama değerleri, grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, İÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

4.6 Paraoksonaz (PON1)

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontrol gruplarının PON1 değerlerinin toplu karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmasından ($p=0.0079$) sonra, grupların ikili karşılaştırmalarında aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

- Sağlıklı kontroller ile hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.792$).
- Sağlıklı kontrollere göre diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı düşük olduğu görüldü ($p<0.001$).
- Diabetik normotansifler ile diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.140$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerine göre anlamlı olarak düşüktü ($p=0.028$).
- Sağlıklı kontrollere ile diabetik normotansifler arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.054$).
- Hipertansiflerin ilaç sonrası değerlerinin ilaç öncesine göre anlamlı olarak yükseldiği saptandı ($p=0.019$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç sonrası değerlerinin ilaç öncesine göre anlamlı olarak yükseldiği görüldü ($p=0.012$).

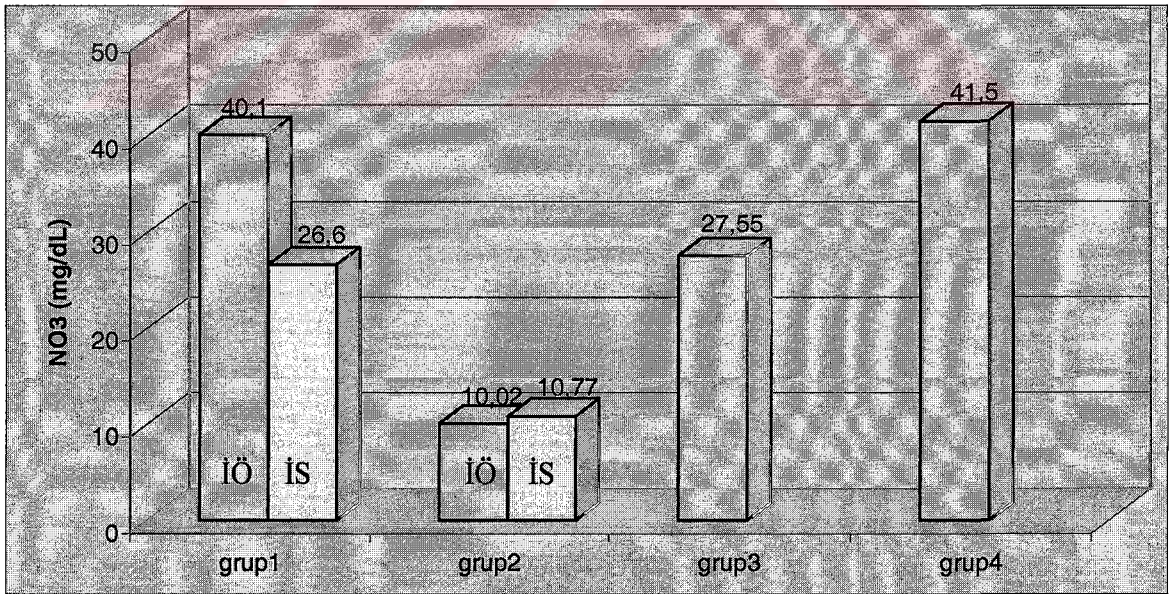


Grafik 4: Grupların PON1 ortalama değerleri, grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, İÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

4.7 Nitrat (NO₃)

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontrol gruplarının NO₃ değerlerinin toplu karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmasından (p=0.001) sonra, grupların ikili karşılaştırmalarında aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

- Sağlıklı kontroller ile hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0.7013).
- Sağlıklı kontrollere göre diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı düşük olduğu görüldü (p<0.001).
- Diabetik normotansiflere göre diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı düşük olduğu saptandı (p<0.001).
- Hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerine göre diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı düşük olduğu saptandı (p<0.001).
- Sağlıklı kontrollere göre diabetik normotansiflerde anlamlı fark saptanmadı (p=0.096).
- Hipertansiflerin ilaç öncesi ve sonrası değerleri arasında anlamlı fark olmadığı saptandı (p=0.679).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi ve sonrası değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0.326).



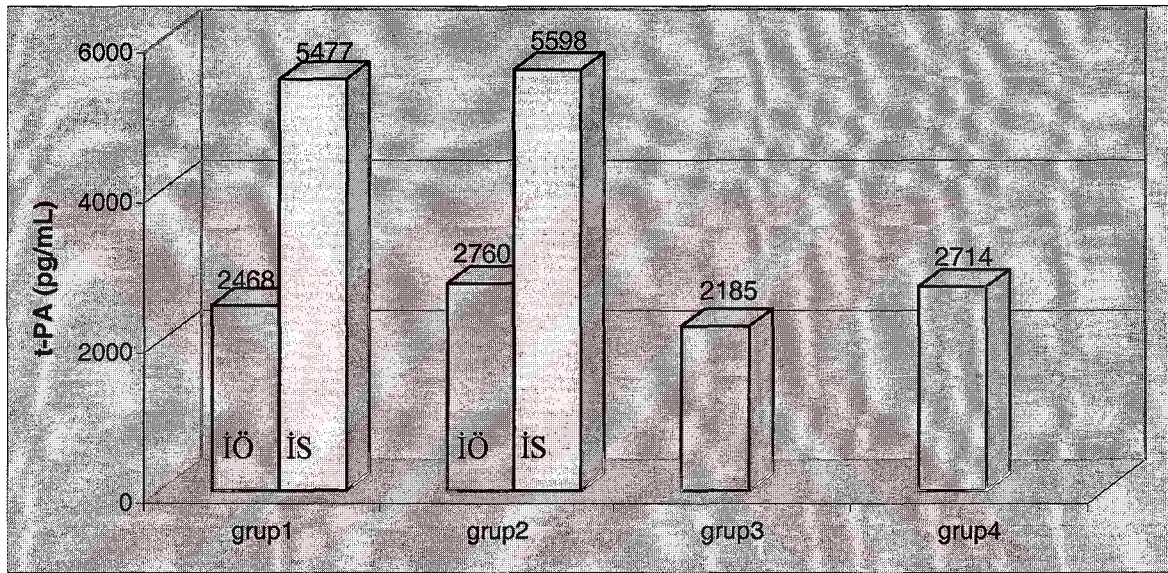
Grafik 5: Grupların NO₃ ortalama değerleri, grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, IÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

4.8 Doku Plazminojen Aktivatör (t-PA)

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontrol gruplarının t-PA değerleri toplu olarak incelendiğinde belirgin fark saptanmadı ($p=0.760$).

İlaç öncesi ve sonrası değerler incelendiğinde aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

- Hipertansiflerin ilaç sonrası değerlerinin, ilaç öncesi değerlerine göre anlamlı olarak yükseldiği saptandı ($p<0.001$).
- Diabetik hipertansif ilaç sonrası değerlerinin, ilaç öncesi değerlerine göre anlamlı olarak yükseldiği bulundu ($p<0.001$).

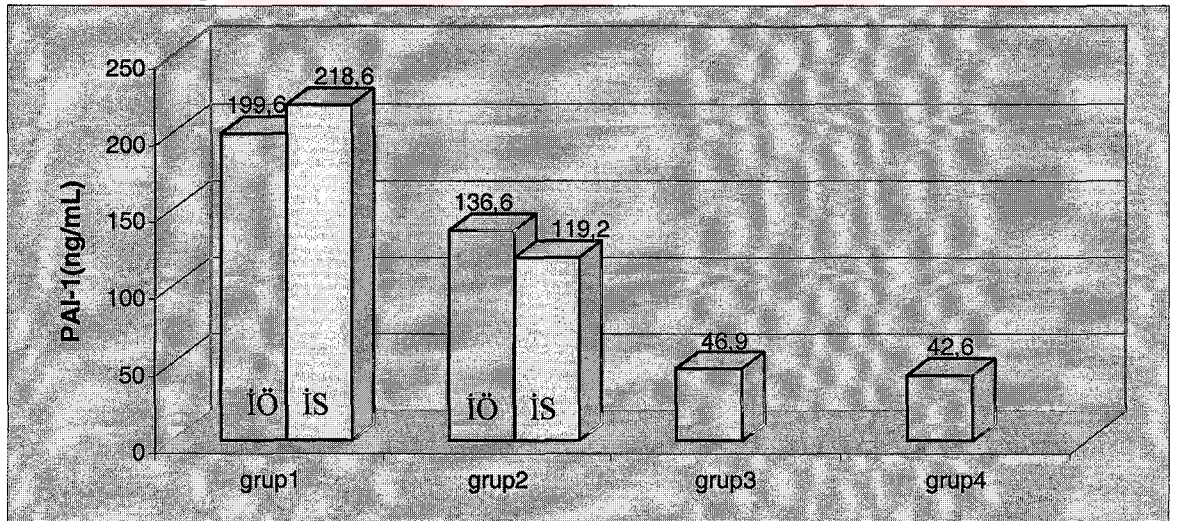


Grafik 6: Grupların t-PA ortanca değerleri, grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, İÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

4.9 Plazminojen Aktivatör İnhibitör (PAI-1)

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontrol grubu PAI-1 değerleri toplu olarak karşılaştırıldığında PAI-1 değerlerinde belirgin fark saptanmasından ($p<0.001$) sonra, grupların ikili karşılaştırılmasında aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

- Hipertansif grup ilaç öncesi, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0.001$).
- Diabetik hipertansif grup ilaç öncesi, sağlıklı kontrol grubunun değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$).
- Diabetik hipertansif ilaç öncesi değerleri ve diabetik normotansif grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı (0.460).
- Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi değerleri arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.138$).
- Sağlıklı kontrollere göre diabetik normotansifler anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$).
- Hipertansif grup ilaç öncesi ve ilaç sonrası PAI-1 değerleri arasında fark saptanmadı ($p=0.199$).
- Diabetik hipertansif grup ilaç öncesi ve ilaç sonrası değerlere bakıldığında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.408$).



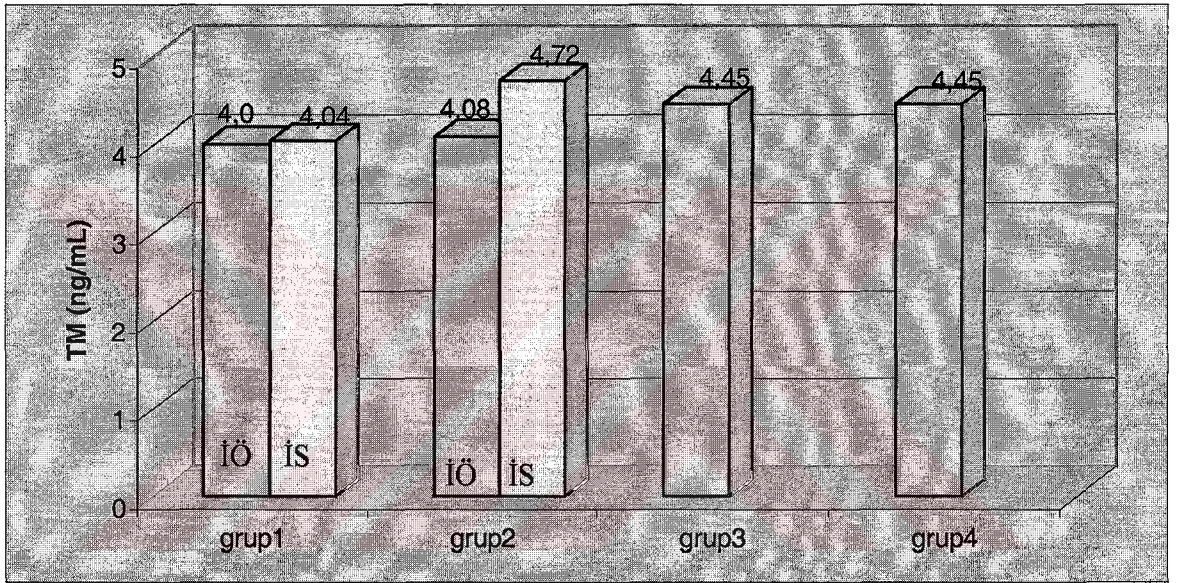
Grafik 7: Grupların PAI-1 ortanca değerleri, grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontrollere, İÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

4.10 Trombomodulin (TM)

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontroller birlikte incelendiğinde TM değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.8398$).

İlaç öncesi ve ilaç sonrası değerler incelendiğinde aşağıdaki değerler elde edildi:

- Hipertansiflerin ilaç öncesi ve ilaç sonrası değerleri incelendiğinde fark bulunmadı ($p=0.446$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç sonrası değerlerinin ilaç öncesine göre anlamlı olarak yükseldiği saptandı ($p=0.034$).



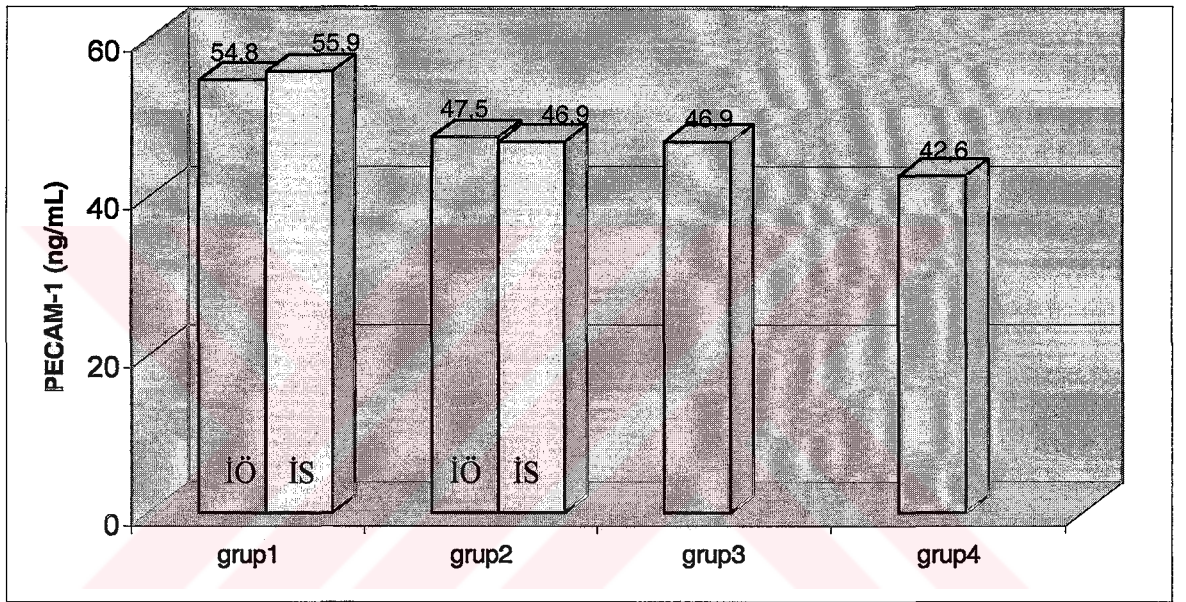
Grafik 8: Grupların TM ortanca değerleri, grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, İÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

4.11 Trombosit Endotelial Hücre Adezyon Molekülü-1 (PECAM-1)

Hipertansif, diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontroller toplu olarak incelendiğinde PECAM-1 düzeylerinde anlamlı fark saptanmadı ($p=0.056$)

İlaç öncesi ve ilaç sonrası değerler incelendiğinde aşağıdaki veriler elde edildi:

- Hipertansif grup ilaç öncesi ve ilaç sonrası PECAM-1 değerlerinde anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.959$).
- Diabetik hipertansif ilaç öncesi ve ilaç sonrası PECAM-1 değerlerinde anlamlı fark saptanmadı ($p=0.865$).



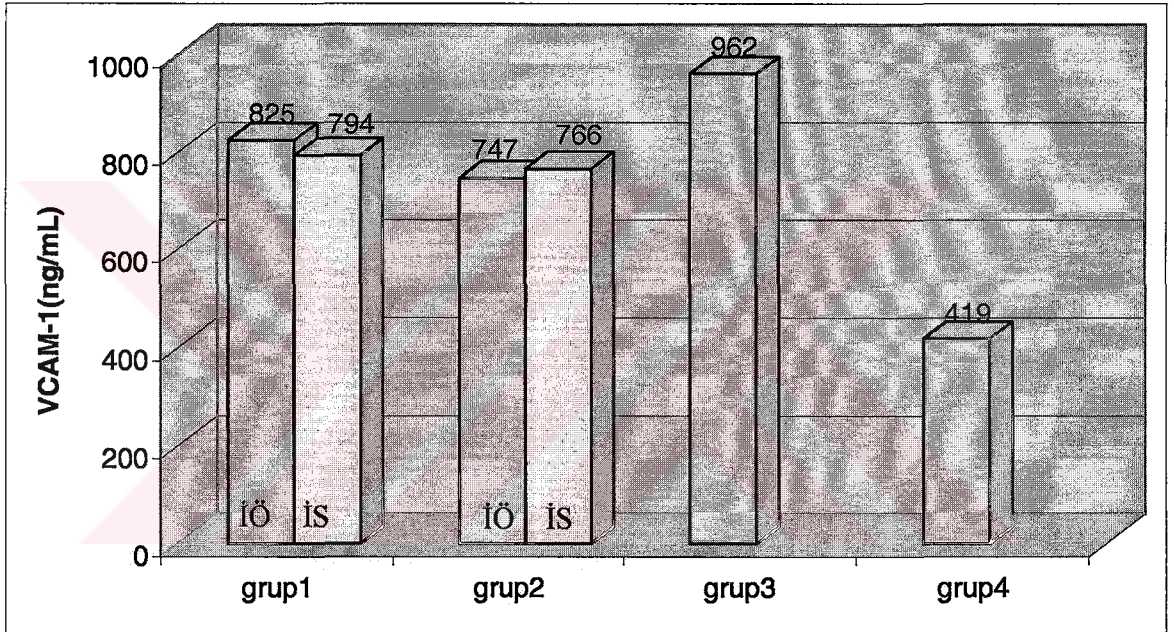
Grafik 9: Grupların PECAM-1 ortanca değerleri, grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, İÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

4.12 Vasküler Hücre Adezyon Molekülü (VCAM-1)

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontrollerin VCAM-1 değerleri toplu olarak karşılaştırıldığında belirgin fark saptanmadı ($p=0.175$).

İlaç öncesi ve ilaç sonrası değerler karşılaştırıldığında aşağıdaki veriler elde edildi:

- Hipertansif grup ilaç öncesi ve ilaç sonrası VCAM-1 değerlerinde anlamlı fark bulunmadı ($p=0.586$).
- Diabetik hipertansif ilaç sonrası değerlerinin ilaç öncesi VCAM-1 değerlerine göre anlamlı olarak yükseldiği saptandı ($p=0.049$).

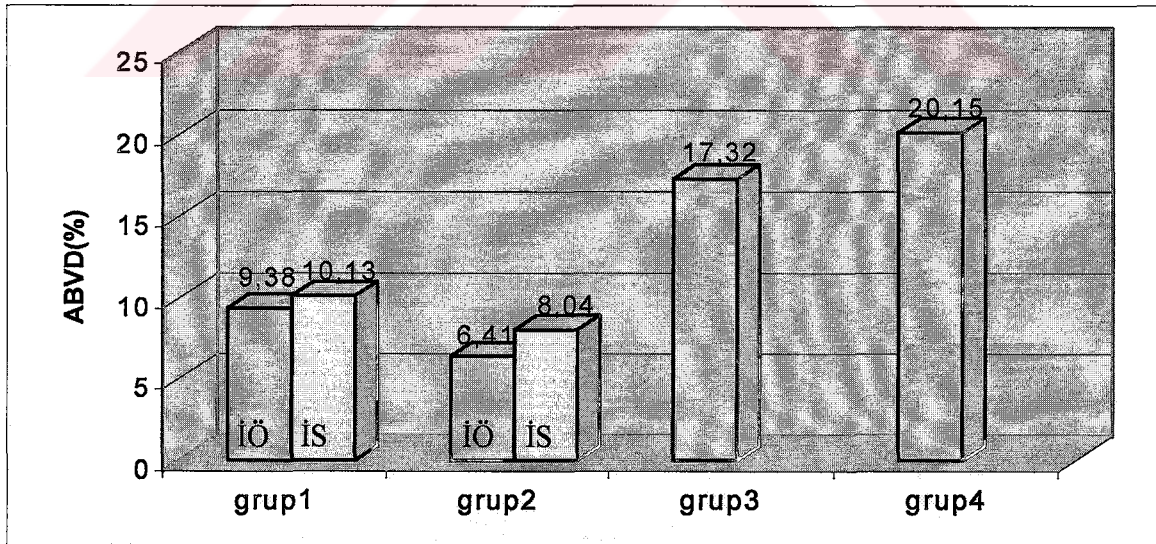


Grafik 10: Grupların VCAM-1 ortanca değerleri, grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, İÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

4.13 Akım Bağımlı Vazodilatasyon (ABVD)

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontrollerin ABVD değerleri toplu olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmasından ($p=0.001$) sonra grupların ikili karşılaştırılmaları yapıldı.

- Hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak düşük saptandı ($p=0.003$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak düşük saptandı ($p<0.001$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri diabetik normotansiflere göre anlamlı olarak düşük saptandı ($p=0.011$).
- Diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri ile hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.403$).
- Sağlıklı kontrollere göre diabetik normotansiflerde anlamlı fark saptanmadı ($p=0.064$).
- Hipertansif grup ilaç öncesi ve ilaç sonrası ABVD değerlerinde anlamlı fark bulunmadı ($p=0.449$).
- Diabetik hipertansif grup ilaç öncesi ve ilaç sonrası ABVD değerlerinde anlamlı fark bulunmadı ($p=0.515$).



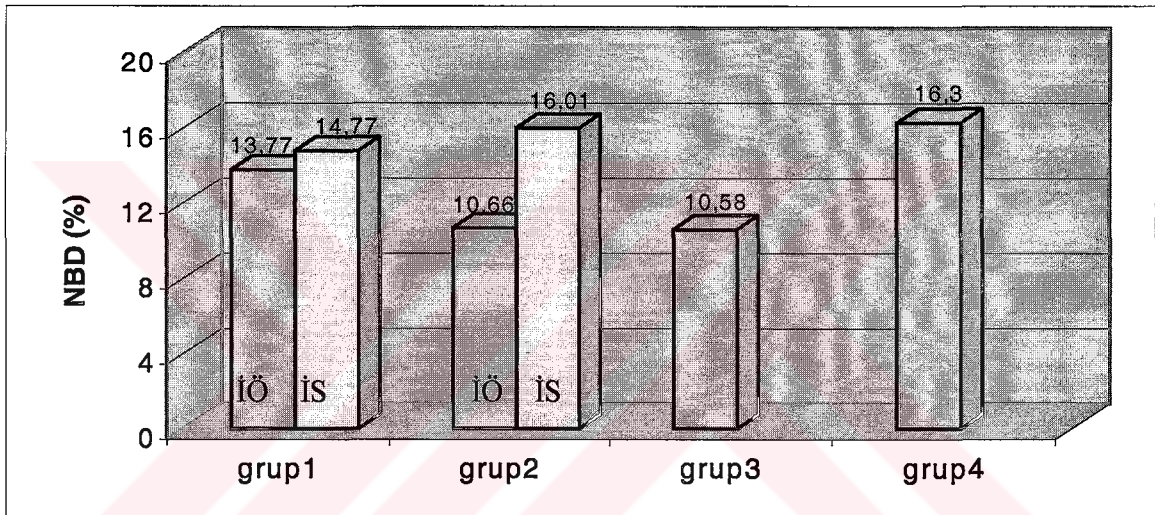
Grafik 11: Grupların ABVD ortanca değerleri, grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, İÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

4.14 Nitrogliserin Bağımlı Dilatasyon (NBD)

Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi, diabetik normotansif ve sağlıklı kontrollerin NBD değerleri toplu olarak karşılaştırıldığında belirgin fark saptanmadı ($p=0.058$).

İlaç öncesi ve ilaç sonrası değerler karşılaştırıldığında aşağıdaki veriler elde edildi:

- Hipertansif grup ilaç öncesi ve ilaç sonrası NBD değerlerinde anlamlı fark bulunmadı ($p=0.795$).
- Diabetik hipertansif ilaç sonrası değerlerinin ilaç öncesi NBD değerlerine göre anlamlı olarak yükseldiği saptandı ($p=0.028$).



Grafik 12: Grupların NBD ortalama değerleri, grup 1: hipertansifler, grup 2: diabetik hipertansifler, grup 3: diabetik normotansifler, grup 4: sağlıklı kontroller, İÖ: ilaç öncesi, İS: ilaç sonrası.

5. TARTIŞMA

Endotel sadece damarların en iç yüzeyini örten, kan ile subendoteliyal dokuları birbirinden ayıran bir tabaka olmayıp, aynı zamanda vasküler fonksiyonun yürütülmesinde önemli görevler üstlenir (5). Endotel hücreleri aktif olarak kan ve doku arasında madde alışverişini, salgıladığı vazoaktif maddeler ile lokal vasküler dengenin devamlılığını sağlar. Son 20 yıl içerisinde araştırmacılar şaşırtıcı sayıda endotel fonksiyonu keşfetmişlerdir. Endotel hücreleri koagülasyon, fibrinoliz, vasküler tonus ve büyüme üzerine etkisi olan faktörler salgılar (38). Bu faktörler yardımı ile endotel yapışkan olmayan (non adheziv) ve kan akımının düzgün olmasını sağlayan bir tabaka oluşturur.

Bazı hastalıklar normal vasküler fonksiyonu bozar. Oluşan endotel disfonksiyonu başka patolojilere de yol açıp kardiyovasküler sistemde bir kısır döngü yaratır (4). ‘Endotel disfonksiyonu’ terimi damar endotelinin antikoagulan, antiinflamatuvar ve vasküler tonusu düzenleyici etkilerinde meydana gelen olumsuz değişimleri tanımlamaktadır (153).

Koroner kalp hastalığının geleneksel risk faktörleri hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diabetes mellitus ve sigaradır. Tüm bu patolojiler endotel disfonksiyonuna neden olur. Endotel disfonksiyonu bu risk faktörlerinin ortak bir sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır. Endotel disfonksiyonu koroner kalp hastalığının başlatıcı ve yönlendirici bir faktörüdür. Hasar-yanıt hipotezi geliştirildikçe endotel disfonksiyonunun önemi giderek artmıştır. Koroner kalp hastalığı ve geleneksel risk faktörleri arasında kilit rolü endotel üstlenir (5).

Buradan yola çıkarak planladığımız çalışmamızda, koroner arter hastalığına neden olan risk faktörlerinin en önemlilerinden olan esansiyel hipertansiyona ve tip II diabetes mellitus ile birlikte hipertansiyona sahip olgularda endotel disfonksiyonunun sağlıklı kişiler ile karşılaştırılarak araştırılması amaçlandı. Endotel disfonksiyonunu yansıttığı düşünülen nitrik oksid, VCAM-1, PECAM-1, trombomodulin, t-PA, PAI-1, paraoksonaz, mikroalbumin düzeyleri ve ayrıca brakial arter akıma bağlı dilatasyon ve nitrogliserin bağlı dilatasyon ölçüldü. Endotel fonksiyonu ve risk faktörleri arasındaki ilişki biyokimyasal açıdan değerlendirildi. Çalışmamızın ikinci hedefi ise bir anjiotensin reseptör blokleri olan telmisartanın antihipertansif olarak kullanımının yanısıra endotel fonksiyonunu geliştirici etkileri, yine bu parametrelerdeki değişimler incelenerek araştırıldı.

Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda endotel disfonksiyonuna neden olan patofizyolojik uyarılar tespit edilmiştir. Bu uyarılar (sitokinler, serbest radikaller, homosistein, hormonlar, hemodinamik etkiler vb.) damar endotel hücrelerine etki ederek hücre yapısı ve fonksiyonunda değişikliklere neden olur.

Tüm koroner kalp hastalıklarında ortaya çıkan en erken değişiklik endotel hücresinin oksidatif metabolizmasının değişmesidir. Böylece oksidatif strese artma olur. Oksidatif stres nedeniyle endotelde bazı maddelerin sentez ve salgısı azalırken bazıları artar. Endoteliyal vasküler denge bozulur (154).

Damar endotelinin nitrik oksid sentezlemesi son yıllarda önemli bir çalışma alanı oluşturmıştır. İlk olarak 1980'de Furchgott ve Zawadzki tarafından endotel kaynaklı bir gevşetici faktör olarak vasküler tonusa etkileri bulunmuştur (7). Daha sonraları endotel kaynaklı relaksasyon faktörünün nitrik oksid (NO) olduğu tespit edilmiştir. NO'nun vasküler kaynaklı vazorelaksasyonda önemli bir rol oynadığı, kardiyovasküler hastalıkların çoğunda endotel bağımlı vazorelaksasyonda bir bozukluk olduğu görülmüştür. Endotel bağımlı vazorelaksasyon kalp yetmezliği, diabetes ve hipertansiyon gibi hastalıklarda bozulmuştur (155).

Kardiyovasküler sistemde NO'nun en iyi tanımlanan etkisi vazodilatasyondur. Endotel hücrelerinde NO yapımı lokal olarak kan basıncının düzenlenmesinde rol oynar. Stamler ve ark'nın yaptığı çalışmada endojen NO sentezinin bir inhibitörü olan L-NMMA (NG-monometil-L-arginin) sağlıklı kişilere uygulanmıştır. NO sentezinde azalma, sistemik kan basıncında artma ve sistemik vasküler rezistans artma saptanmıştır. Endotel kaynaklı NO'nun bazal salınımı sistemik vasküler rezistans ile direkt ilgilidir (156).

Artmış kan basıncı kardiyovasküler hastalık (strok, akut miyokard infarktüsü) gelişiminde bilinen bir risk faktörüdür. Kan basıncının azaltılması ile kardiyovasküler hastalık mortalite ve morbiditesi azalır (157). Normal kan basıncının endoteliyal NO ile korunmaya çalışılması NO'nun vazoprotektif etkilerini yansıtır.

NO bağımlı vazodilatasyon cGMP bağımlı protein kinazların aktivasyonu aracılığı ile olur. Intraseküler Ca^{+2} konsantrasyonu azalır ve vazodilatasyon meydana gelir (158).

Vasküler hemostazda trombositler önemli rol oynar. Hemostatik tıkaç oluşturma ve agregasyon özellikleri başka mekanizmalar ile dengelenmelidir. NO trombositlerde cGMP yapımını uyarır. Protein kinaz C aktive olur. Trombosit agregasyonu önlenir. Trombosit agregasyonunun NO ile inhibisyonu trombosit içi Ca^{+2} konsantrasyonunun azalması ile olur (159).

Vasküler endotel hücrelerinde çeşitli adezyon moleküllerinin ekspresyonu lökosit adezyonuna neden olur. VCAM-1, ICAM-1, MCP-1 ve E-selektin gibi sitokinlerin ekspresyonu artar. Kubes ve ark NO'nun lökosit adezyonunu inhibe eden güçlü bir endojen mediyatör olduğunu bulmuşlardır (160).

NO vasküler hücre proliferasyonunu inhibe eder. NO'nun antiproliferatif etkileri tam olarak anlaşılmamıştır. Tanner ve ark NO'nun cGMP bağımlı olarak protein kinaz aktivasyonu ve Raf-1 gen inhibisyonu ile düz kas hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini bulmuşlardır (161).

Hipertansiyonun deneysel modellerinde NO yapımı ve salınımı azalır. Endotel kaynaklı kontraktıl faktörler veya prostoglandin H₂ yapımı artar. Diabette endotelden NO salınımı azalır (162).

Serumda NO ölçümü ile ilgili çalışmaların çoğu NO metabolizmasının son ürünleri olan nitrit ve nitrat ölçümlerine dayanmaktadır. NO çok kısa yarı ömürlü bir radikal olmasından dolayı ölçümü zordur. NO radikalının stabil son ürünleri olan nitrit ve nitratın plazma ve serumda ölçümü NO radikalının göstergesi olarak kullanılabilir. Tam kanda nitritin 1 saatte %95'den fazlası nitrate okside olmaktadır. Bu nedenle NO radikalının göstergesi olarak nitrit ölçümü pek anlamlı olmadığından çalışmamızda nitrat ölçümü yaptık. Çalışmamızda nitrat ölçümü için, Boriéss ve ark'nın geliştirdiği β -NADPH'nin varlığında nitratın nitrite indirgenmesine dayanan enzimatik yöntem kullandık. Bu elektron taşıyıcısı olarak FAD'ın kullanıldığı tek basamaklı bir reaksiyondur. Doğrudan nitrat redüktaz varlığında β -NADPH oksidasyonu ölçülerek nitrat kantitasyonu yapılmaktadır (151, 163).

Nava ve ark spontan hipertansif ratlarda NO'nun oksidasyon ürünü olan nitrat ve eNOS'ı normotansif ratlara göre yüksek bulmuşlar. Bu çalışmada bazal NO salınımı spontan hipertansif ratlarda artmıştır. NO yapımının direkt olarak hayvanlardaki kan basıncı yüksekliğini kompanse etmeye yönelik olarak artmış olabileceğini öne sürmüşlerdir (164).

Dishy ve ark'nın yaptığı çalışmada hayvan modellerinde ve insanlarda tuza duyarlı hipertansiyonda kan basıncı artarken, NO yapımının azaldığından bahsedilmektedir. Turi ve ark hipertansif hastalarda nitrat plazma düzeylerinde azalma ve plazma lipid peroksidasyonu/nitrik oksid oranında artış saptamışlardır. Benzer şekilde Channon ve ark hipertansif hayvan modellerinde ve insanlarda artmış süperoksid yapımının damar endotel disfonksiyonuna ve NO etkisinin azalmasına neden olduğu belirtilmiştir. Böylece artmış oksidatif stress durumlarında NO peroksinitril oluşumuna katılarak etkisi azalır (165, 166, 167).

Endotelin-1 (ET-1) çok güçlü bir vazokonstriktördür. ET-1 aşırı ekspresyonu olan transgenik farelerde normal kan basıncının görülmesi, vasküler ET-1'in NO gibi çeşitli vazodilatör mekanizmalar ile dengelendiği fikrini doğurmuştur. ET-1 aşırı düzeylerde olmasına karşın endotel bağımlı relaksasyon tespit edilmiştir. Quaschining ve ark'nın çalışmasında aktif ET-1 sistemine karşı NO yapımının up-regülasyonu vasküler tonusu normal aralıkta tutmaya çalışarak hipertansiyondan korunma sağlar (168). Çalışmamızda sağlıklı olgular ile

hipertansif grup nitrat değerleri karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Hipertansiyonda artan vasküler tonusun NO ile dengelenmeye çalışıldığı dūřınıldı. Cockcroft ve ark'nın çalışmalarında da kontrol olguları ile karşılaştırıldığında esansiyel hipertansif olgularda endotel bağımlı relaksasyonda azalma tespit edilmemiştir (169)

Tip II DM'un endotel disfonksiyonuna neden olduğu koroner kalp hastalığı için önemli bir risk faktörü olduğunu söylemiştik. Pieper ve ark'nın yaptığı hayvan çalışmasında streptozotosin ile indüklenen diabetik ratlarda endotel bağımlı vazorelaksasyonda azalma, diabetin 8. haftasında pankreas adacık transplantasyonu sonrası ve 4 hafta ğlisemik dönem sonrası endotel bağımlı vazorelaksasyonda düzelme incelenmiştir. Nitrik oksid sentazın insulin tarafından regulasyonu fosfotidilinozitol 3 (PI₃) yolu aracılığı ile yapılmaktadır. İnsulin endotel bağımlı NO salınımını arttırarak vazodilatasyon sağlar. Tip II DM'lu hastalarda, PI₃ yolu inhibe olarak, insulinin NO aracılı vazodilatör ve antiinflamatuvar etkileri bloke olur. İnsulinin mitojenik etkilerden sorumlu mitojen aktive edici protein (MAP) kinaz yolu daha baskın hale gelir (170, 171).

Steinberg ve ark metakolin veya sodyum nitroprussid uygulanan tip II DM'lu hastalarda, obezlerde ve sağlıklı kontrollerde bacak kan akımını incelemişlerdir. Metakolin muskarinik bir agonist olup endotel bağımlı vazodilatasyonu incelemek için ve sodyum nitroprussid ekzojen nitrik oksid kaynağı olarak endotelden bağımsız vazodilatasyonu ölçmek için kullanılmıştır. Nitroprussid kullanımında her üç grubun bacak kan akımlarında bir farklılık saptanmamış fakat metakolin kullanımında obez ve tip II DM'lularda vazodilatasyonda çok az artma saptanmıştır. Bu durum insulinin nitrik oksid bağımlı vazodilatasyon üzerine olan etkilerinin bu hastalık gruplarında bozulduğunu göstermektedir (172). Benzer bir çalışmada Williams ve ark n kol kan akımındaki nitrik okside bağımlı değişimlerin tip II DM'lu kişilerde azaldığını göstermişlerdir (173).

Diabetes mellitusta artmış oksidatif stres nedeniyle moleküler oksijen ve kimyasal türevleri olan reaktif oksijen türleri (ROS) artar. ROS transkripsiyon faktörlerini aktive edip trombosit ve lökositlere karşı adezyon moleküllerini arttırır, NO aktivitesinde azalmaya, ileri glikasyon ürünleri oluşumuna ve LDL oksidasyonuna neden olur.

Hiperglisemi eNOS ve iNOS aracılığı ile NO sentezini stimüle eder. Fakat oluşan NO ortamda fazla olarak bulunan moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksinitrilleri (OONO⁻) oluşturur. Diabette oksidatif strese bağlı OONO⁻ artışı endotel hücrelerinde toksik hasara neden olmakta ve endotelial NO sentezi azalmaktadır (174, 258).

Çalışmamızda tip II DM'lu olup hipertansiyon gelişen olguların nitrat değerlerinin sağlıklı kontrollerden ve normotansif diabetiklerden anlamlı düşük olduğu görüldü. Diabet ve hipertansiyonun endotel disfonksiyonu üzerine additif etki oluşturduğu düşünüldü.

Koroner arter hastalığının derecelendirilmesi, invaziv bir yöntem olan anjiyografi ile koroner arter darlığının yüzdesi ve darlığın yerleşim yerine göre yapılmaktadır. Son yıllarda koroner arter hastalığının fizyopatogenezinde ve klinik seyrinde damar endotelinin önemi daha iyi anlaşılmıştır (175, 176, 177).

Yüksek rezolüsyonlu eksternal ultrason sistemleri yardımı ile vasküler duvarın morfoloji ve fonksiyonlarının araştırılması kolaylaşmıştır. 1992'de Celermajer ve ark'nın tarif ettiği endotel bağımlı dilatasyon, periferik ultrasonografik tetkik ile gösterilmiştir (79).

Damar endotelinin vasküler tonusu kontrol ettiği anlaşıldıktan sonra vazomotor tonusun ölçülmesi için non invaziv tetkikler geliştirilmiştir (175). Akıma bağlı dilatasyon (ABD) tekniği ile damar endotelinin fonksiyonu test edilebilmektedir. Bazal çapa oranla dilatasyon sonrası brakial arterde artan çapın yüzdesi ABD'un değerlendirilmesi için kullanılmaktadır. Endotel disfonksiyonu sistemik bir olay olması nedeniyle brakial arterdeki dilatasyon cevabı, koroner arterin vazomotor tonusunu da yansıtmaktadır (178, 179, 180).

Bir çok çalışmada olduğu gibi çalışmamızda hipertansiflerin ABD yüzdeleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak düşük saptandı. Bu durum bazı araştırmacılar tarafından hipertansif hastalarda NO sentezinin ve etkisinin azalmasına bağlanmıştır (181, 182, 183, 184, 185, 186). Fakat bizim çalışmamızda sağlıklı kontrol grubu ile hipertansiflerin NO₃ değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı. Normal endotelial fonksiyonda vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon yapan maddeler bir dengededir (187,188). Damarlarda vazodilatasyon yapan tek madde NO değildir. Diğer vazodilatasyon yapan maddelerin azalması, veya vazokonstriktör maddelerin artması sonucunda vasküler tonusta artma ve hipertansiyon gelişmiş olabilir. Çalışmamızda vasküler tonusu etkileyen AII, ET ve prostosiklin gibi diğer maddeler ölçülmedi. Bu nedenle vasküler reaktivite değerlendirilmesinde ABD ve NO₃ değerlerinin uyumlu çıkmamış olabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda diabetik hipertansiflerin ABD yüzdeleri normotansif diabetikler ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak düşük saptandı. Normotansif diabetikler ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı fark saptanmadı. Aynı durum Preiker ve ark, Woodman ve ark tarafından da tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda hipertansif olgular, diabetik olgular ve hipertansif diabetik olguların endotel fonksiyonu karşılaştırılmış ve önkol ABD yüzdesi diabetik hipertansiflerde en düşük bulunmuştur (189,190). Bizim çalışmamızda da diabetik hipertansif grubun en

düşük ABD değerleri göstermesi nedeni ile diabet ve hipertansiyonun endotel disfonksiyonu üzerine additif etki oluşturduğu düşünüldü.

Endotel bağımsız dilatasyon cevabının izlenmesi sublingual nitrogliserin uygulanması ile sağlanmaktadır (79). Böylece dışarıdan vazodilatör bir madde uygulanması ile damarın verebildiği yanıt ölçülmektedir. Çalışmamızda gruplar arası NBD değerlerinde anlamlı fark saptanmadı.

Spesifik anjiotensin 1 (AT1) reseptör antagonistlerinin spontan hipertansif ratlarda endotel fonksiyonlarını düzelttiği öne sürülmüştür. Örneğin bir AT1 reseptör blokörü olan Losartan NO bağımlı vazodilatasyonu arttırdığı ve endotel kaynaklı kontraktıl faktöre (tromboksan A2) bağımlı vazokonstriksiyonu engellediği düşünülmüştür. Fakat AT1 reseptör blokerlerinin endotel fonksiyonunu düzeltme mekanizması tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Güçlü bir vazokonstriktör olan anjiotensin II (AII) ile zıt yönde güçlü vazodilatör etkili NO'nun arasındaki dengenin sağlanması gerekir. AT1 reseptör blokerlerinin NO ve tromboksan arasındaki dengeyi sağlayarak endotel fonksiyonlarını onardığı ileri sürülmüştür. Başka bir çalışmada losartanın spontan hipertansif ratlarda endotele ait bozulan vazodilatasyon yeteneğini 2 haftalık tedavi sonunda düzelttiği belirlenmiştir (191, 192). Benzer şekilde Losartan tedavisi ile hipertansif hastalarda ABD değerlerinde düzelme tespit edilmiştir (184). Çalışmamızda hipertansiflerin ve diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi ve sonrası NO değerleri arasında anlamlı fark olmadığı saptandı.

AII'nin bilinen tüm kardiyovasküler sistem ve böbrek etkileri, AT1 reseptörleri aracılığı ile gelişir. AII kan basıncının kontrolünde NO gibi lokal faktörler ile işbirliği yapar. Losartanın AII'yi antagonize etmesi dışında başka bir mekanizma yardımı ile kan basıncını düzenlediği görülmüştür (193). Spontan hipertansif ratlarda NO sentez inhibitörleri, losartanın antihipertansif etkisinin azalmasına neden olur (194). Bu bulgu NO'nun kısmi olarak losartanın antihipertansif etkisine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Henüz daha mekanizmalar tam olarak açıklığa kavuşmamış bile olsa NO ve anjiotensin sistemi arasında sıkı ilişki bulunduğu görülmektedir. NO AII'nin fizyolojik antagonistidir. AII'nin endotel hücre kültürlerinde NO sentezini AT2 reseptörleri aracılığı ile uyardığı gösterilmiştir. AT1 reseptör antagonistleri uygulandığında konsantrasyonu artan AII, serbest bulunan AT2 reseptörlerine bağlanarak NO sentezini uyarmaktadır (195). Losartanın tansiyon düşürücü etkisi bu şekilde artmaktadır. Fakat çalışmamızda kullandığımız telmisartanın bu etkisi tespit edilmemiştir.

Hem hipertansif hem de diabetik hipertansif olgularda telmisartan tedavisi ile sistolik ve diastolik kan basınçlarında anlamlı düşme olmasına rağmen ilaç öncesi ve ilaç sonrası ABD

değerlerinde de NO₃ değerlerine benzer şekilde anlamlı fark saptanmadı. Selektif bir AT1 reseptör blokörü olan telmisartanın vasküler tonus üzerine olan etkisi 12 haftalık uygulama sonunda değerlendirildi. Bu sürenin daha uzatılması farklı sonuçların alınmasına neden olabilir.

Bu noninvaziv ucuz testin tarama testi olarak aterosklerotik risk faktörleri olan olgularda kolay uygulanabilmesi gibi avantajları olmasına rağmen kullanımını sınırlandıran bazı faktörlerde vardır (196). Hedef arterin iyi bir şekilde görüntülenmesi, testin uygulama süresince arter görüntüsünün sabit olarak tutulması zordur (197). Normal olgularda bile çok farklı düzeylerde brakial arter dilatasyonu olmaktadır (198). ABD ölçümünün tek başına uygulanması ile endotel disfonksiyonunu hakkında fikir sahibi olmak zordur. Bu nedenle bizim çalışmamızda olduğu gibi diğer biyokimyasal parametreler ile endotelin vazomotor, antitrombotik, antikoagulan ve fibrinolitik fonksiyonları birlikte değerlendirilmelidir.

Mikroalbuminüri idrarda albumin atılımının 30-300mg/24 saat miktarda olmasıdır. İlk olarak 1982’te Viberti ve Keen tarafından üriner mikroalbumin ekskresyonun diabetik nefropatinin erken bir göstergesi olduğu bulunmuştur (199).

Mikroalbuminüri glomerüler hasarın reversibl ve erken bir göstergesidir. Mikroalbuminüri olan diabetik hastalarda kardiovasküler mortalite 4-6 kat artar ve renal mortaliteden bağımsız bir risk faktörüdür (200). Ayrıca tip 2 DM’da koroner kalp hastalığı ve periferik damar hastalığı morbidite ve mortalite riskinde artmayı gösterir (201,202).

Böbrek sistemik vasküler permeabilitede meydana gelen en küçük değişikliğe duyarlıdır. Bu nedenle mikroalbuminüri vasküler permeabilite bozukluğu ile seyreden kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkilidir.

Mikroalbuminüri ölçümü için albumine karşı antikorların kullanıldığı turbidimetrik veya nefelometrik yöntemler kullanılabilir. Çalışmamızda turbidimetrik yöntem kullanıldı.

Çalışmamızda nefropatisi olmayan hastalarda mikroalbumin düzeyleri ölçülerek kardiyovasküler hastalık riskini tespit etmeye çalıştık. Sağlıklı kontrollere göre hipertansiflerin ilaç öncesi, diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi ve diabetik normotansiflerin değerleri anlamlı yüksek bulundu. Fakat hipertansifler ile diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerleri arasında anlamlı fark saptanmaması hipertansiyon ve tip 2 DM birlikteliğinin albuminüriyi arttırmadığını gösterdi. Gerber ve ark da hipertansif hastalarda normal kişilerle göre mikroalbuminüriyi yüksek bulmuşlardır (203). Ponrtmoli ve ark, Deckert ve ark kan basıncında artış ile mikroalbuminüri arasında (+) korelasyon bulmuşlardır (204, 205).

Spijkerman ve ark 174 tip 2 diabet hastası ve sağlıklı kişinin mikroalbumin değerlerinin 10 yıllık izlemi sonunda mikroalbuminürinin yeni bir kardiyovasküler risk faktörü olabileceğini tespit etmişlerdir (206).

Çalışmamızda hipertansif ve diabetik hipertansif hastalarda mikroalbumin değerlerinin 3 aylık telmisartan tedavisi sonrası anlamlı değişmediği saptandı. Bu durumun telmisartanın kan basıncını regüle etmesine rağmen renoprotektif etkilerinin grubunun diğer ilaçlarına göre daha az olabileceğinden veya 3 ay süreli tedavinin yetersiz olabileceğinden kaynaklandığı düşünüldü. Valsartan, irbesartan ve losartan ile yapılan çalışmalarda tip 2 diabetik hastalarda mikroalbumin değerlerinin düşürdüğü ve diabetik nefropatiden korunma sağladığı gözlenmiştir (207, 208, 209).

HDL'nin koroner kalp hastalığına karşı koruyucu etkileri oldukça komplekstir. HDL'nin arter duvarından ters kolesterol transportu ile kolesterolü temizleyici etkisinin yanısıra HDL enzimleri ile hücre membranlarını koruyucu etkileri vardır. Paraoksonaz 1 (PON1) HDL'nin üzerinde bulunan antioksidan bir enzim olup, lipid peroksidlerinin hidrolizi ile eliminasyonunda görevlidir. PON1 erken aterosklerozun risk faktörlerindendir (89). Yapılan çalışmalarda Tip 2 diabette koroner kalp hastalığı riski PON1 fenotipleri ile ilişkili bulunmuştur (89, 210).

Çalışmamızda serumda PON1 aktivite ölçümünde, Krisch ve Ark'ın modifiye edilmiş metodu kullanıldı. Serumda bulunan PON1, substratı olan paraoksonu paranitrofenol ve dietil fosforik aside dönüştürür. Paraoksonun PON1 ile enzimatik hidrolizi sonucu oluşan paranitrofenolün 405 nm'de absorbansı kinetik olarak ölçülür (152).

Çalışmamızda sağlıklı kontroller ile hipertansiflerin ilaç öncesi ve diabetik normotansif değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı. Arca ve ark, Rice ve ark benzer şekilde PON1 aktiviteleri ile hipertansiyon arasında ilişki bulamamışlardır (211, 212).

Laploud ve ark serum PON1 aktivitesini tip 2 DM'lu olgularda sağlıklı kontrollere göre düşük bulunmuşlar ve tip 2 DM ile kardiyovasküler hastalıklar arasında PON1 açısından bir ilişki bulunabileceğini ileri sürmüşler (90). Glisemik kontrolü bozuk olan olgularda Hegele ve ark PON1 aktivitesini düşük bulmuşlardır (213).

Çalışmamızda ise normotansif diabetikler ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı olarak fark bulunmaması bu durumun olguların glisemik durumun regüle olmasına bağlı olabileceğini düşündürdü. Kopprasch ve ark da normaller ve bozulmuş glikoz toleransı olanlarda PON1 aktivitelerini farklı bulmamıştır (214). Buda bize PON1 aktivitesindeki azalmanın tip 2 DM'un geç dönemlerinde gelişebileceğini düşündürdü.

Çalışmamızda sağlıklı kontrollere göre diabetik hipertansiflerin ilaç öncesi değerlerinin anlamlı düşük olduğu görüldü. Aynı zamanda diabetik hipertansiflerin PON1 aktiviteleri diabetik olmayan hipertansiflere göre anlamlı olarak düşüktü. Diabetik hipertansifler ile diabetik normotansifler arası fark saptanmadı. PON1 aktivitesinin hipertansiflerde ve diabetik normotansiflerde sağlıklı kontrollerden farklı bulunmaması, diabetik hipertansiflerde ise hipertansiflere ve sağlıklı kontrollere göre PON1 aktivitesinin anlamlı düşük saptanması, PON1 aktivitesi düşüklüğünün diabet ve hipertansiyon birlikteliğine neden mi olduğu yoksa sonuç olarak mı geliştiği tartışmasını doğurmaktadır.

Sözmen ve ark da çalışmamızdakine benzer olarak diabetik hipertansifler ve diabetik normotansifler arasında anlamlı fark bulamamışlardır (215).

Hipertansiflerin ve diabetik hipertansiflerin ilaç sonrası değerlerinin ilaç öncesine göre anlamlı olarak yükseldiği saptandı. Esansiyel hipertansif ve tip 2 diabetik hipertansiflerde telmisartan tedavisinin PON1 aktivitesini yükseltici etkisini açıklayacak bir mekanizma ortaya konamadı.

Fibrinolitik aktivite intravasküler tromboz oluşumunda önemli bir savunma mekanizmasıdır. Fibrinolitik sistem ile koagulan sistem arasında dengenin bozulması, iskemik kardiyovasküler hastalık riskinde artışa neden olur. Bu dengesizlikleri yaratan hipertansiyon, hiperlipidemi, insulin rezistansı, tip II DM gibi endotel disfonksiyonuna neden olan hastalıklar, kardiyovasküler olayların artmasında rol oynar. Hipertansiyonun protrombotik ve hiperkoagulan bir durum oluşturduğu gün geçtikçe daha fazla sayıda klinik ve laboratuvar çalışma ile desteklenmektedir. Hipertansiyonun başlıca komplikasyonları olan koroner arter hastalığı ve inme trombotik doğada oluşur. Miyokard infarktüsü, inme gibi vasküler hastalıklarda fibrinolitik sistem aktivitesini yansıtan doku plazminojen aktivatörü (t-PA) ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) ölçümleri yapılmaktadır.

t-PA ve PAI-1 hem antijen konsantrasyonu olarak immunolojik yöntemler ile hem de aktivite olarak fonksiyonel teknikler ile ölçülebilir. Bu durumda moleküler yapının kantitasyonu ile fonksiyonel aktivitenin tespit edilmesi arasında bir seçim yapma gereği ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda ELISA metodunu kullanarak t-PA ve PAI-1 antijen düzeylerini tespit ettik. ELISA yöntemi ile antijen ölçümü yapılırken inaktif olarak plazmada dolaşan t-PA/PAI-1 kompleksleri de ölçülmektedir. PAI-1 ve t-PA arasında moleküler ilişki nedeniyle 1:1 oranında t-PA-PAI-1 kompleksi oluşur. PAI-1'e bağlanan t-PA inaktif hale gelir. Bu durumda yalnızca t-PA antijen ölçümü yerine t-PA antijeni ve aktivitesi ölçümünün daha anlamlı olduğu ileri sürülmektedir (54).

Frumoto ve ark'nın yaptığı çalışmada hipertansiyonun erken ateroskleroza olan katkısını değerlendirmek için endotel hasarının hassas bir göstergesi olan plazma t-PA ve brakiyal arterde akıma bağlı dilatasyon normotansif ve tedavi altındaki hipertansif hastalarda incelenmiştir. Akıma bağlı dilatasyon normotansifler ile karşılaştırıldığında hipertansiflerde azalmıştır. Hipertansiflerde tedaviye rağmen t-PA artmış olarak bulunmuştur (216).

Jern ve ark sınır hipertansiflerde normotansiflere göre t-PA antijeni ve PAI-1 antijeninde artış saptamışlardır. Sınır hipertansiyonda artmış kan akımının oluşturduğu shear strese yanıt olarak t-PA salınımının arttığı öne sürülmüştür. Benzer şekilde Markis ve ark'da hafif ve orta derece hipertansiyonda t-PA ve PAI-1 antijen plazma düzeylerini normotansiflere göre yüksek saptamışlardır. İsveç'te yapılan popülasyona dayalı çalışmada Eliasson ve ark 25-64 yaş arası 1558 normotansif, sınır hipertansiyon, tedavi edilmemiş hipertansif ve tedavi edilmiş hipertansif olguda PAI-1 ve t-PA aktivitesini ölçmüşlerdir. PAI-1 aktivitesini en düşük olarak normotansif grupta ve artan düzeyde sırayla sınır hipertansiyon, tedavi edilmemiş hipertansiyon ve tedavi edilmiş hipertansiyon vakalarında saptamışlardır. t-PA aktivitesini en yüksek olarak normotansif grupta ve azalan düzeyde tedavi edilmiş hipertansiyon, sınır hipertansiyon, tedavi edilmemiş hipertansiyonda saptamışlardır. Hipertansiyonda t-PA'nın bağımsız düşüklüğünün endotelial disfonksiyonu yansıttığı öne sürülmüştür (217, 218, 219).

Framingham 2. nesil çalışmasında kardiyovasküler hastalığı olan ve antikoagulan veya antihipertansif tedavi almayan 1193 erkek, 1459 kadın hastada PAI-1 ve t-PA antijen düzeyleri ile sistolik kan basıncı ve diastolik kan basıncı arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Bu çalışmada Poli ve ark hipertansif olgularda kardiyovasküler olayın patogeneğinde fibrinolizde bozulmanın önemli bir rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir. (220). Buna karşın Jansson ve ark hipertansiflerde normotansiflere göre artmış PAI-1 ve t-PA aktivitesi saptamışlar fakat t-PA antijen düzeyini her iki grupta farklı bulmamışlardır (220, 221).

1993 yılında Ridker ve ark t-PA antijeninde tespit edilen yüksekliğin aterosklerotik koroner hastalığın bir nedeni değil tersine bir sonucu olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu nedenle t-PA antijen seviyelerinin ölçümünün fibrinolitik aktiviteden çok vasküler hasarı yansıttığı düşünülmüştür. t-PA antijen ölçümü endotel hasarının veya disfonksiyonun bir göstergesi olabilir, fakat trombosit kaynaklı t-PA'nın plazma t-PA düzeylerinin yükselmesine katkıda bulunabileceği akıldan çıkarılmamalıdır. Tek başına t-PA antijeninin yüksek tespit edilmesi vasküler hasar saptanmasında yeterli olmaz (222). Çalışmamızda ELISA yöntemi ile t-PA ve PAI-1 antijen seviyelerini ölçtük. Hipertansif ve diyabetik hipertansif grupların antihipertansif tedavi öncesi, normotansif diyabetik ve sağlıklı kontrol gruplarının t-PA değerleri birlikte

incelendiğinde anlamlı fark saptanmadı. Bu durum bize endoteliyal vasküler hasarın hasta gruplarında tam olarak gelişmemiş olabileceğini düşündürdü. Fakat bu grupların PAI-1 değerleri arasında belirgin fark saptandı. Hipertansif grup ilaç öncesi PAI-1 düzeyleri, sağlıklı kontrol grubunun değerlerine göre anlamlı yüksek bulundu. Yapılan bir çok çalışmada plazma PAI-1 antijen ve aktivitesinin çeşitli faktörlerden etkilendiği gösterilmiştir. Plazma PAI-1 düzeyleri vücut kitle indeksi, bel-kalça oranı, obezite, yüksek trigliserid düzeyleri, yüksek kolesterol düzeyleri, postmenapozal dönem, alkol ve sigara kullanımı ile pozitif olarak korele bulunmuştur (57).

Çalışmamızda hem normotansif diabetik grup hem de diabetik hipertansif grup ilaç öncesi PAI-1 değerleri, sağlıklı kontrol grubunun değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Yapılan bir çok çalışma sonucunda tip II DM’u olan veya insulin rezistansı olan hastalarda vasküler endotel hücrelerinde PAI-1 sentez ve salınımının yüksek olduğu gösterilmiştir. PAI-1 konsantrasyonunda artma global olarak fibrinolitik aktivitede azalmaya neden olmaktadır. Klinik olarak plazma glukoz düzeylerinin tip II DM’da kontrollü gitmesinin, plazma PAI-1 aktivitesini düşürdüğü öne sürülmüştür (60, 223, 224, 225, 226, 227). Hipergliseminin insulinden bağımsız olarak plazma PAI-1 düzeylerini yükselttiği öne sürülmüştür (228). Çalışmamızda hem normotansif hem de hipertansif tip II DM’lu grup regüle diabetikler arasından seçildiği için glukozun PAI-1 üzerine olan etkisi dışlanmış oldu. Bu gruplarda sağlıklı kontrol grubuna göre PAI-1 düzeylerinde meydana gelen yüksekliğe artmış insulin rezistansının katkıda bulunabileceği düşünüldü.

Festa ve ark glukoz tolerans testi sonuçlarına göre, insulin, insulin öncülü olan proinsulin ve proinsulin yıkım ürünleri ile koagülasyon-fibrinolitik markırları arasında ilişki saptamışlardır. Yaş ve cinsiyet açısından denkleştirilmiş gruplarda, PAI-1 antijen seviyeleri glukoz tolerans testi sonuçlarına göre (normal, bozulmuş, tip II DM) incelendiğinde en yüksek düzeyler tip II DM’da bulunmuştur. İnsulin ve proinsulin yıkım ürünleri PAI-1 düzeyleri ile pozitif olarak koreledir. Arter duvarında diabetin PAI-1 seviyelerine olan etkisinin incelendiği Pandolfi ve ark’nın çalışmasında diabetiklerin mamarian arter duvarında PAI-1’in oluşturduğu immunfloresansta artma ve plazma fibrinolitik aktivitelerinde azalma saptanmıştır. Diabet ile arter duvarında artmış PAI-1 ekspresyonu ilişkili bulunmuştur. PAI-1 günümüzde insulin rezistansının güçlü bir göstergesi olarak kabul edilir (229, 230).

Çalışmamızda diabetik hipertansif ilaç öncesi ve diabetik normotansif grup PAI-1 değerleri arasında farklılık saptanmadı. Hipertansif ve diabetik hipertansif ilaç öncesi PAI-1 değerleri arasında da anlamlı fark yoktu. Bu durum hipertansiyon ve tip II DM birlikteliğinin additif olarak antifibrinolitik etkiyi arttırmadığını düşündürmektedir. Yada diabetik hastaların

kullandığı metformin ve tiazolidinedion grubu anti-diabetik ajanlar glukoz düşürücü etkilerinin yanısıra antitrombotik, profibrinolitik ve vasküler endotel fonksiyonu düzeltici hipertansiyon ve tip II DM'un oluşturduğu negatif additif etkileri bir miktar giderebilmektedir (231, 232).

Çalışmamızda hipertansiflerin ve diabetik hipertansiflerin antihipertansif tedavi sonrasında t-PA değerlerinin anlamlı olarak yükseldiği bulundu. Hipertansif ve diabetik hipertansif grupların ilaç öncesi ve ilaç sonrası PAI-1 değerlerine bakıldığında anlamlı fark saptanmadı. Anjiotensin tip 1 reseptör antagonistleri fibrinolitik sistem üzerine olan etkilerini, AT4 reseptörleri aracılığı ile PAI-1 ekspresyonu arttırarak gösterirler. Anjiotensin converting enzim (ACE) inhibitörlerinin tersine bradikinin yıkımına etkili olmadıkları için, t-PA düzeylerine etki etmezler. Fakat yapılan in vivo çalışmalarda AT1 reseptör antagonistlerinin farklı etkileri tespit edilmiştir. Bazı araştırmacılar ACE inhibitörlerine benzer etkiler bulmuşlardır. Erdem ve ark'nın çalışmasında AII antagonisti losartan ve ACE inhibitörü perindopril verilen olgularda PAI-1 antijeni ve aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Katoh ve ark'nın AII antagonisti kandesartan ile yaptığı rat çalışmasında ve Seljeflot ve ark'nın losartan ile yaptığı insan çalışmasında PAI-1 düzeylerinde bizim çalışmamıza benzer bir şekilde anlamlı farklılık saptanmamıştır (233, 234, 235).

Trombomodulin (TM) trombine bağlanarak bir antikoagulan olan protein C'yi aktive eder ve antikoagulan yolu başlatır. Profibrinolitik ve antifibrinolitik yollar arasında dengeleyici bir unsurdur. Charles Esmon'un 1997 yılında yayınlanan derlemesinde TM yapısı ve konsantrasyonlarında anormallikler olan olgularda tromboembolik hastalık riskinin arttığını yazmıştır (49).

TM nötrofillerdeki H₂O₂ tarafından aktive edilen endotel hücre kültürlerinden salınır. Homosistein ve AGE'ler ile inkübe edilen endotel hücre kültürlerinde TM konsantrasyonu artar. Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar sonucunda TM'in endotel hücre hasarının bir markırı olabileceği öne sürülmüştür. Endotel hücre hasarı sırasında TM'in ekstrasellüler bölümü proteazlar tarafından yıkılır ve kana karışır. TM konsantrasyonları diabetik mikroanjiopati, böbrek yetmezliği, pre-eklampsi, trombotik trombositopenik purpura, vaskülit, romatoid artrit, sepsisemi, hipertkolesterolemi, akut miyokard enfarktüsü ve transplant rejeksiyonu gibi durumlarda artar. Tüm bu hastalıklarda endotel hücrelerinin çok büyük bir kısmının bulunduğu mikrovasküler damar yatağı etkilenmektedir (236, 237).

ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) çalışmasında Salomaa ve ark koroner kalp hastalarında ve semptom vermeyen karotid arter aterosklerozunda sTM'nin konsantrasyonlarını incelemişlerdir. Koroner arter hastalığı olanlarda olmayanlara göre sTM

daha düşüktür. Karotid arter aterosklerozu olanlarda olmayanlara göre daha yüksektir. Koroner arter hastalığında saptanan düşük sTM'in bozulmuş antikoagulan aktiviteyi, karotis aterosklerozunda saptanan yüksek sTM'in artmış endotelial TM ekspresyonunu ve endotel hasarını yansıttığını öne sürmüşlerdir (238).

Çalışmamızda hipertansif ve diabetik hipertansif hastaların sağlıklı kontrollere göre sTM düzeylerinde anlamlı farklılık bulunmamıştır. Benzer şekilde Nilson ve ark kan basıncı yüksekliği ile sTM düzeylerini ilişkili bulmamışlardır. Oida ve ark'nın yaptığı çalışmada 106 tip II DM'lu hastada sTM düzeyleri ölçülmüştür. sTM konsantrasyonları proteinürisi olan hastalarda, proteinürisi olmayan tip II DM'lu hastalar ve sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunmuştur. sTM konsantrasyonları ile serum kreatinin, üre, idrar albumin, β_2 mikroglobulin düzeyleri arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Ayrıca preproliferatif retinopati ve proliferatif retinopatisi olan tip II DM'lu hastalarda sTM düzeyleri yüksek bulunmuştur. Oida ve ark plazma sTM yüksekliğinin diabetik anjiopatiye bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Çalışmamızda diabetik hipertansif ve diabetik normotansif gruplar oluşturulurken nefropati ve retinopati gibi mikroanjiopatik komplikasyonlu olgular çalışma dışı bırakıldı. Bu şekilde diabet komplikasyonların oluşturabileceği etkiler ekarte edildi (239, 240).

Mihara ve ark'nın 119 erkek olguda yaptığı çalışmada benzer şekilde koroner aterosklerozu olan ve olmayanlar arasında sTM konsantrasyonlarında belirgin bir fark saptanmamıştır (241).

Oida ve ark'nın çalışmasındaki gibi plazma sTM düzeylerini yaş, serum üre ve kreatinin ile korele bulmuşlar fakat koroner ateroskleroz ve hipertansiyon ile ilişkili bulmamışlardır. Eğer koroner arter hastalığı olanlarda yükselmiş plazma sTM düzeyleri bulunmuş ise bu durumun böbreklerden TM klirensindeki azalmaya bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (240). Çalışmamızda da hipertansif ve diabetik hipertansif olguların böbrek fonksiyonlarının normal olması, TM düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre farklı bulunmamasında rol oynamış olabilir. Trifiletti ve ark'nın çalışmasında da bizim çalışmamızdaki gibi yeni tanı almış komplikasyon gelişmemiş esansiyel hipertansiyonlu olguların TM düzeyleri ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı fark bulunmamıştır (242).

Arteriyel endotel hücrelerine lökositlerin adezyonu ateroskleroz gelişiminde önemli bir basamaktır (100). İmmünglobulin ailesinden olan adezyon molekülleri örneğin vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1) aktive endoteliuma lökositlerin adezyonunda görev alır. VCAM-1 lenfosit ve monositlerin üzerinde bulunan VLA₄'e bağlanır (243). Endotel hücreleri tarafından eksprese olan diğer bir adezyon molekülü trombosit endotelial hücre adezyon

molekölü-1 (PECAM-1) olup endotel hücreleri arasındaki etkileşim bölgelerinde bulunur ve lökositlerin endotel hücrelerinden transmigrasyonunu sağlar (244).

Tip 2 DM'lu hastaların sıklıkla obezite, hipertansiyon ve dislipidemi gibi aterosklerotik kalp hastalığına neden olabilecek faktörler ile komplike olduğunu söylemiştik. Yapılan bazı çalışmalarda tip 2 DM'da bulunan yüksek VCAM-1 konsantrasyonlarına neden olan mekanizmalar daha tam olarak anlaşılamamıştır. Fakat VCAM-1 yüksekliğinin hiperglisemi veya hiperinsulinemi/insulin rezistansına bağlı olabileceği düşünülmüştür (245, 246, 247). Diabetik hastalarda belirgin ve subklinik olarak seyreden ateroskleroz gelişimi hiperinsulinemi/insulin rezistansı ile ilişkili olabilir (248). Plazma sVCAM-1 düzeyleri endotel, düz kas hücreleri ve makrofajların VCAM-1 ekspresyonunu yansıtır. Progresif aterosklerotik lezyon oluşumunda serum sVCAM-1 düzeyleri yükselir (249,250). Çalışmamıza katılan tip 2 DM'lu hipertansif ve normotansif hastaların regüle diabetik olması bu hastalarda VCAM-1 ve PECAM-1 düzeylerinde artış saptanmamasının nedeni olabilir.

Esansiyel hipertansiyonun vasküler endotel üzerine negatif etkileri olduğu, proinflatuvar olayları tetikleyebildiği, nitrik oksid düzeylerini azalttığı ve kemokin sentezini arttırabildiği gözlemlenmiştir (251, 252, 253, 254).

Damar endotelinden salınan VCAM-1 gibi adezyon moleküllerinin solubl formları monosit ve endotel hücre etkileşimi sonucu artar. Bu durum hipertansif hastalarda gelişmiş olabileceği düşünülen endoteliyal hasarı yansıtır (255). Çalışmamızda hipertansif grupta VCAM-1 ve PECAM-1 düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek bulunmaması hipertansiyon tanısı yeni konulan bu olgularda endoteliyal hasarın ilerlememiş olabileceğini düşündürdü.

Hipertansif grup ilaç öncesi ve ilaç sonrası VCAM-1 ve PECAM-1 değerlerinde belirgin fark bulunmadı. Diabetik hipertansif ilaç öncesi ve ilaç sonrası PECAM-1 değerlerinde anlamlı fark saptanmadı fakat diabetik hipertansif ilaç sonrası VCAM-1 değerlerinin ilaç öncesine göre belirgin olarak yükseldiği saptandı. Fakat bu artışın mekanizması anlaşılamadı.

Jilma ve ark'nın çalışmasında diğer anjiyotensin 2 antagonistlerinden olan valsartan ve losartan'nın adezyon molekülleri üzerine yükseltici etkisi olmadığı gözlenmiştir (256, 257).

Sonuç olarak; Esansiyel hipertansif ve tip 2 diabetik normotansiflerde idrar MAU ve serum PAI-1 değerlerinin, diabetik hipertansiflerde bu parametrelere ek olarak PON1 ve NO₃ değerlerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı farklılık göstermesi, tip 2 diabet ve esansiyel hipertansiyon birlikteliğinin endotel disfonksiyonunu arttırdığını düşündürmektedir. Bu hasta gruplarında AT1 reseptör blokeri olan telmisartan kan basıncını regüle etmesine rağmen endotel disfonksiyonu markırları olan idrar mikroalbumin ve serum PAI-1 değerlerini etkilemediği saptanmıştır. Bu durum idrar mikroalbumin ve serum PAI-1 değerlerinin endotel

disfonksiyonu tanısında kullanılabileceğini, fakat AT1 reseptör bloker tedavi izleminde yararlı olmayacağını düşündürmektedir. Tedaviye yanıt olarak PON1 ve t-PA değerlerindeki değişikliklerin anlamlı olması, bu parametrelerin ilaç izleminde yararlı markırlar olabileceğini işaret etmektedir. Kullanılan tedavinin endotel disfonksiyonu üzerine olan etkilerinin daha kapsamlı araştırılması için; bu tür çalışmaların, daha büyük hasta gruplarıyla ve daha uzun süreli yapılması uygun olacaktır.



6. ÖZET

Damar endotel tabakası tek sıralı bir hücre dizisidir ve hemodinamik, hücresel ve kimyasal uyarıları membran reseptörleri aracılığı ile algılayarak mediyatör görevi yapan NO, ET-1, PAI-1, t-PA, solubl TM gibi birçok molekül sentezler ve salgılar. Endotel oluşturduğu fizyopatolojik denge sayesinde damar tonusu devamlılığı, trombosit ve lökosit adezyon inhibisyonu ve düz kas hücre proliferasyon inhibisyonu gibi fonksiyonlara sahiptir. Normal endotel fonksiyonunun damar homeostazında bu derece önemli rol oynamasından ötürü vazospazm, vazokonstriksiyon, trombüs ve damar proliferasyonu ile seyreden hastalıkların patogenezinde endotel disfonksiyonunun önemli katkıları olduğu gözlenmiştir.

Koroner kalp hastalığının geleneksel risk faktörleri hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diabetes mellitus ve sigaradır. Endotel disfonksiyonu bu risk faktörlerinin ortak bir nedeni ve/veya sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır. Endotel disfonksiyonu koroner kalp hastalığının başlatıcı ve yönlendirici bir faktördür. Koroner kalp hastalığı ve geleneksel risk faktörleri arasında kilit rolü endotel üstlenir.

Bu çalışmada, esansiyel hipertansif, tip II diabetik normotansif ve tip II diabetik hipertansif olgularda endotel disfonksiyonunun araştırılması ve sağlıklı kişiler ile karşılaştırılması amaçlandı. Endotel disfonksiyonunu yansıttığı düşünülen NO, VCAM-1, PECAM-1, TM, t-PA, PAI-1, PON1, MAU düzeyleri ve ayrıca brakial arter doppleri ile akıma bağlı dilatasyon (ABD) ve nitrogliserine bağlı dilatasyon ölçüldü. Endotel disfonksiyonu ve risk faktörleri arasındaki ilişki biyokimyasal açıdan değerlendirildi. Bu çalışmanın ikinci hedefi ise bir anjiotensin reseptör blokleri olan ve bir antihipertansif olarak kullanılan telmisartanın endotel disfonksiyonu üzerine olan etkileri, yine bu parametrelerdeki değişimler incelenerek araştırıldı.

Bu çalışmaya 18 esansiyel hipertansif (grup 1), 16 regüle tip II DM’u olup sonradan hipertansiyon gelişen (grup 2), 10 regüle tip II diabetes mellituslu normotansif (grup 3) ve 10 sağlıklı kişi (grup 4) katıldı. Grup 1 ve 2’ye 12 hafta süre ile anjiotensin reseptör blokleri olan telmisartan 40 mg/gün dozda uygulandı. Grup 1 ve 2’nin ilaç öncesi ve ilaç sonrası, grup 3 ve 4’ün ise bir defa olmak üzere serum NO, PON1, TM, sVCAM-1, sPECAM-1, t-PA, PAI-1, idrar MAU ve doppler ultrasonografi ile brakial arterde ABD ve nitrogliserine bağlı dilatasyon ölçümü yapıldı.

Sağlıklı kontrollere göre esansiyel hipertansiflerin, tip II diabetik normotansiflerin ve tip II diabetik hipertansiflerin idrar mikroalbumin (sırasıyla $p=0.012$, $p=0.004$, $p=0.006$) ve serum PAI-1 ($p<0.001$) değerlerinin anlamlı yüksek olduğu, sağlıklı kontrollere göre tip II diabetik

hipertansiflerin serum PON1 değerlerinin ($p<0.001$) ve NO_3 değerlerinin ($p<0.001$) ise anlamlı olarak düşük olduğu görüldü. Esansiyel hipertansif ve tip 2 diabetik normotansiflerde idrar MAU ve serum PAI-1 değerlerinin, diabetik hipertansiflerde bu parametrelere ek olarak PON1 ve NO_3 değerlerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı farklılık göstermesi, tip II diabet ve esansiyel hipertansiyon birlikteliğinin endotel disfonksiyonunu arttırdığını düşündürmektedir.

ABD değerleri, sağlıklı kontrollere göre esansiyel hipertansiflerde ($p=0.003$) ve diabetik hipertansiflerde ($p<0.001$) anlamlı olarak düşük saptandı. Diabetik normotansiflere göre diabetik hipertansiflerin ABD değerleri ($p=0.011$) anlamlı olarak düşük saptandı. Diabetik hipertansiflerin ABD değerlerinin en düşük olması tip II diabet ve esansiyel hipertansiyon birlikteliğinin endotel disfonksiyonunu arttırdığını gösteren diğer bir bulgu oldu.

Esansiyel hipertansif hastaların ilaç sonrası sistolik kan basıncı ($p<0.001$) değerlerinin anlamlı olarak düştüğü ve diastolik kan basıncı ($p=0.097$) değerlerinde anlamlı farklılık olmadığı saptandı. Tip II diabetik hipertansif hastaların ilaç sonrası sistolik kan basıncı ($p<0.001$) ve diastolik kan basıncı ($p=0.020$) değerlerinin anlamlı olarak düştüğü, telmisartan tedavisi ile kan basıncı değerlerinin istenen düzeylere indiği görüldü. Hipertansif ve diabetik hipertansif gruplarda idrar MAU, serum PAI-1 düzeylerinde tedavi sonrası anlamlı bir fark olmaması bu parametrelerin endotel disfonksiyonu tanısında kullanılabileceğini, fakat AT1 reseptör bloker tedavi izleminde yararlı olmayacağını düşündürmektedir. Telmisartan tedavi sonrasında hipertansif ve diabetik hipertansif gruplarda serum PON1 (sırasıyla $p=0.019$, $p=0.012$) ve t-PA ($p<0.001$) değerlerinde anlamlı yükselme olması bu parametrelerin ilaç izleminde yararlı markırlar olabileceğini işaret etmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmanın bulguları antihipertansif etkili AT II reseptör blokeri telmisartanın endotel disfonksiyonu üzerine etkileri hakkında bilgi sağlamıştır. Telmisartanın esansiyel hipertansiyon ve tip II diabetes mellitus patogenezinde önemli rolü olan endotel disfonksiyonunun bazı göstergelerinde oluşturduğu değişiklikler bu ilacın endotel disfonksiyonunu bir miktar düzelttiğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Gimbrone MA. Vascular endothelium: Nature's blood container. In Gimbrone MA Jr (ed.). Vascular endothelium in hemostasis and thrombosis. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1986; pp:1-13
2. Petty RG, Pearson JD. Endothelium- the axis of vascular health and disease. J R Coll Physicians 1989;23:92-101
3. Lucher TF. Endothelial dysfunction in coronary artery disease. J Myocard Ischemia. 1995;7(suppl 1): 15-20
4. Rubanyi GM: The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. J Cardiovasc Pharmacol. 1993;22(suppl 14):S1-S4
5. Müller MM, Griesmacher A. Markers of endothelial dysfunction. Clin Chem Lab Med 2000;38(2):77-85
6. Raitakari OT, Celermajer DS. Testing for endothelial dysfunction. Ann Med 2000;32:293-304
7. Furchott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature 1980;288:373-6
8. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. Nature 1987;327: 524-26
9. Webb D, Vallance P. Endothelial function in hypertension. Nitric oxide and hypertension: Physiology and pathophysiology. Eds. Vallance P, Moncada S. Springer, NY, 1997
10. Vanhoutte PM, Perrault LP, Vilaine JP. Endothelial dysfunction and vascular disease. The endothelium and clinical practice. Eds. Gabor M Rubanyi, Victor J. Dzay Marcel Dekker Inc, NY, 1997
11. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. Circulation 2002;Feb 5:546-9
12. Nava E, Wiklund NP, Salazar FJ. Changes in nitric oxide release in vivo in response to vasoactive substances. Br J Pharmacol 1996; 119:1211-1216
13. Webb D, Vallance P. Endothelial function in hypertension. Role of Nitric oxide. Eds. Vallance P, Moncada S. Springer ,NY, 1997
14. Lindop GBM. Textbook of hypertension. In: Swales (ed) Blackwell Scientific, London, 1994
15. Nava E, Noll G, Lüscher TF. Increased activity of constitutive nitric oxide synthase in cardiac endothelium in spontaneous hypertension. Circulation 1995; 91:2310-13

16. Cohen R. Dysfunction in Vascular Endothelium in Diabetes Mellitus. *Circulation*. 1993,(87):71-77
17. Bucala R, Tracey KJ, Cerami A. Advanced glycosilation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilation in experimental diabetes. *J Clin Invest*. 1991, 87(2):432-8
18. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostoglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976; 263:663-665
19. Gavras H, Gavras I. Endothelial function in cardiovascular disease: The role of bradykinin. Science Press, 1997
20. Webb D, Vallance P. Endothelial function in hypertension. Other factors in endothelial cell dysfunction in hypertension and diabetes. Cohen R A, Pagano P J. Springer, NY, 1997
21. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-415
22. Wagner OF, Christ G, Wojta T. Polar secretion of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *J Biol Chem* 1992;16066-68
23. Subodh V, Todd A. The ten most commonly asked questions about endothelial function in cardiology. *Cardiology in Review* 2001;9(5):250-252
24. Webb D, Vallance P. Endothelial function in hypertension. Vascular biology of endothelin system. Eds. Webb DJ, Gray GA. Springer ,NY, 1997
25. Ergül A. Hypertension in black patients, An emerging role of endothelin system in salt sensitive hypertension. *Hypertension* 1999;36:62-67
26. Hisaki K, Matsumura Y, Nishiguchi S, Fujita K, Takaoka M, Morimoto S. Endothelium independent pressor effect of big endothelin-1 and its inhibition by phosphoramidon in rat mesenteric artery. *Eur J Pharmacol* 1993;241:75-81
27. Resink T, Hahn AW, Scott-Burden T, Powell J, Weber E, Buhler RF. Inducible endothelin mRNA expression and peptide secretion in cultered human vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;168:1308-1310
28. Tokunaga O, Fan J, Watanabe T, Kobayashi M, Kumazaki T, Mitsui Y. Endothelin: immunohistologic localization in aorta and biosynthesis by cultured human aortic endothelial cells. *Lab Invest* 1994;67:210-217
29. Oldroyd SD, Marcos K. Endothelin: What does the radiologist need to know? *The British J Radiol*. 2000;73:1246-1251

30. Webb D, Vallance P. Endothelial function in hypertension. Endothelin in hypertension: A role of vascular hypertrophy? Ed. Schiffrin EL. Springer ,NY, 1997
31. Kohno M, Yasunari K, Murakawa KI. Plasma immunoreactive endothelin-1 in essential hypertension. *Am J Med.* 1990;88:614-618
32. Gallai M, DeWolf R, Pullen M. Distribution and functional role of renal endothelin subtypes in normotensive and hypertensive rats. *Kidney Int.* 1994;46:1287-94
33. Haynes WG, Ferro CJ, O’Kane KPI, Sommerville D, Lomas CC, Webb DJ. Systemic endothelin receptor blockade decreases peripheral vascular resistance and blood pressure in humans. *Circulation* 1996;93:1860-70
34. McMahon EG, Palomo MA, Brown MA, Bertenshaw ST, Carter JS. Effect of phosphoramidon (endothelin converting enzyme inhibitor) and BQ-123 (endothelin receptor subtype A antagonist) on blood pressure in hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1993; 6:667-673
35. Larivière R, Li J-S, Schiffrin EL. Endothelin-1 expression in blood vessels of DOCA-salt hypertensive rats treated with the combined ETA/ETB endothelin receptor antagonist bosentan. *Can J Physiol Pharmacol* 1995;73:390-398
36. Deng LY, Day R, Schiffrin EL. Localization of sites of enhanced expression of endothelin-1 in the kidney of deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *J Am Soc Nephrol* 1996
37. Chillon JM, Heistad DD, Baumbach GL. Effects of endothelin receptor inhibition on cerebral arterioles in hypertensive rats. *Hypertension* 1996;27:794-798
38. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loskalzo J, Zimmerman GA, Mc Ever RP ve ark. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998;91:3527-61
39. Müller MM, Griesmacher A. Markers of endothelial dysfunction. *Clin Chem Lab Med* 2000;38(2):77-85
40. Esmon CT, Fukudome K, Mather T, Bode W ve ark. Inflammation, sepsis, and coagulation. *Hematologica* 1999; 84:254-9
41. Esmon CT. Regulation of blood coagulation. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000;1477:349-60
42. Sadler JE. Thrombomodulin structure and function. *Thromb Haemost* 1997;78:392-95
43. Conway EM, Pollefeyt S, Collen D, Mosonyi MS. The amino terminal lectin like domain of thrombomodulin is required for constitutive endocytosis. *Blood* 1997;89(2):652-661

44. Weisel JW, Nagaswami C, Young TA, Light DR. The shape of thrombomodulin and interactions with thrombin as determined by electron microscopy. *The Journal of Biochemistry* 1996;271(49):31485-90
45. Wang W, Nagashima M, Scheneider M, Morser M, Nesheim M. Elements of primary structure of thrombomodulin required for efficient thrombin activable fibrinolysis inhibitor activation: *The Journal of Biological Chemistry* 2000; 375(30):22942-47
46. Ishii H, Uchiyama H, Kazama M. Soluble thrombomodulin antigen in conditioned medium is increased by damage of endothelial cells. *Thromb Haemost* 1991;65:618-23
47. Inukai T, Fujiwara Y, Tayama K, Aso Y, Takemura Y. Clinical significance of measurements of urine and serum thrombomodulin in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Prac* 1996;33:99-104
48. Marcos M, Borcea V, Isermann SG, Gehrke G, Ehret T et al. Effect of α lipoic acid on the progression of endothelial cell damage and albuminuria in patients with diabetes mellitus: an exploratory study. *Diabetes Res Clin Prac* 2001;52:175-183
49. Esmon CT. Defects in natural anticoagulant pathways as potential risk factors for myocardial infarction. *Circulation* 1997;96:9-11
50. Lip GYH, Blann E. Von Willebrand factor: A marker of endothelial dysfunction in vascular disorders? *Cardiovasc Res*.1997;34:255-265
51. Mannucci PM. Von Willebrand Factor. A marker of endothelial damage? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1359-62
52. Vaughan DE. Angiotensin and vascular fibrinolytic balance. *AJH* 2002;15:3S-8S
53. Dobrovolsky AB, Titaeva EV. The fibrinolysis system: Regulation of activity and physiologic functions af its main components. *Biochemistry (Moscow)* 2002;67(1):116-126)
54. Chandler WL, Alessi MC, Aillaud MF, Henderson PV. Clearance of tissue plasminogen activator (T-PA) and T-PA/ plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) complex. *Circulation* 1997;96:761-768
55. Sjögren LS, Doroudi R, Gan L, Jungersten L, Hrafnkelsdóttir T, Jern S. Elevated intraluminal pressure inhibits vascular tissue plasminogen activator secretion and down regulates its gene expression. *Hypertension* 2000; 95:1002-8
56. Juhan-Vague I, Alessi MC. PAI-1, obesity, insulin resistance and risk of cardiovascular events. *Thromb Haemost*. 1997 Jul;78(1):656-60
57. Huber K. Plasminogen activator inhibitor type-1 (part One): Basic mechanisms, regulation and role for thromboembolic disease. *J Thrombosis and Thrombolysis* 2001;11(3):183-193)

58. Van Meijer M, Pannekoek H. Structure of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) and its function in fibrinolysis:an update. *Fibrinolysis* 1995;9:263-276
59. Morgaglione M, Di Minno G, Grandone E ve ark. Abnormally high circulation levels of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1 in patient with a history of ischemic stroke. *Atheroscler Thromb* 1994;14:1741-5
60. Thogersen AM, Jansson JH, Boman K ve ark. High plasminogen activator inhibitor 1 and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infaction in both men and women: Evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. *Circulation* 1998;98:2241-7
61. Pandolfi A, Giaccari A, Cilli C, Alberta MM ve ark. Acute hyperglycemia and acute hyperinsulinemia decrease plasma fibrinolytic activity and increase plasminogen activator inhibitor type 1 in the rat. *Acta Diabetol* 2001;38:71-6
62. Sobel BE. Effects of glycemic control and other determinants on vascular disease in type 2 diabetes. *Am J Med.* 2002;113(6A):12S-22S
63. Krieglstein CF, Granger DN. Adhesion molecules and their role in vascular disease. *Am J Hypertens* 2001;14(6)44S-54S
64. Mulvihill NT, Foley JB, Crean P, Walsh M. Prediction of cardiovascular risk using soluble cell adhesion molecules. *Eur Heart J.* 2002;23:1569-1574
65. Huo Y, Ley K. Adhesion molecules and atherogenesis. *Acta Physiol Scand* 2001;173:35-43
66. Cook-Miles JM. VCAM-1 signals during lymphocyte migration: Role of reactive oxygen species. *Molecular Immun.*2002;39:499-508
67. Iiyama K, Hajra L, Iiyama M, Li H, DiChiara M, Medoff BD, Cybulsky MI. Patterns of vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 expression in rabbit and mouse atherosclerotic lesions and at sites predisposed to lesion formation. *Circ Res.* 1999;85:199-207
68. Parissis JT, Venetsanou KF, Mentzikof DG, Kalantzi MV ve ark. Plasma levels of soluble cellular adhesion molecules in patients with arterial hypertension. Correlations with plasma endothelin-1. *Eur J Int Med.* 2001;12:350-356
69. Matheny HE, Deem TL, Cook-Miles JM. Lymphocyte migration through monolayers of endothelial cell lines involves VCAM-1 signaling via endothelial cell NADPH oxidase. *J Immunol.* 2000;164:6550-6559
70. Sommer D, Fakata KL, Swanson SA, Stemmer PM. Modulation of phosphatase activity of calcineurin by oxidants and antioxidants in vitro. *Eur J Biochem* 2000;267:2312-2322
71. Newman PJ. Perspectives series: Cell adhesion in vascular biology. The biology of PECAM-1. *J Clin Invest.* 1997;99(1):3-8

72. Newman PJ, Berndt MC, Gorski J, White G.Cd. ve ark. PECAM-1 (CD-31) clonning and relation to adhesion molecules of the immunoglobulin gene superfamily. *Science* 1990;247:1219-22
73. Osawa M, Masuda M, Harada N, Lopes RB, Fujiwara K. Tyrosine phosphorylation of platelet endothelial cell adhesion molecule-1(PECAM-1, CD31) in mechanically stimulated vascular endothelial cells. *Eur J Cell Biol.* 1997;72:229-237
74. Murohara T, Delyani JA, Albelda SM, Lefer AM. Blockade of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 protects against myocardial ischemia and reperfusion injury in cats. *J Immunol* 1996;156:3550-7
75. Behar E, Chao NJ, Hirake DD, Krishnaswamy S, Brown BW ve ark. Polymorphism of adhesion molecule CD31 and its role in acute graft-versus-host disease. *N Engl J Med.* 1996;334:286-291
76. Sun Q, DeLisser HM, Zukowski MM, Paddock C, Albelda SM, Newman PJ. Individually distinct Ig homology domains in PECAM-1 regulate homophilic binding and modulate receptor affinity. *J Biol Chem* 1996;271:11090-8
77. Fujiwara K, Masuda M, Osawa M, Kano Y, Katoh K. Is PECAM-1 a mechanoresponsive molecule? *Cell structure and function* 2001;26:11-17
78. Van Guldener C, Stehouwer CD. Hyperhomocysteinemia, vascular pathology and endothelial dysfunction. *Sem in Thromb and Hemost.* 2000;26(3):281-289
79. Celermajer DS, Soronsen K, Gooch V. Noninvasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-1115
80. Hashimoto M, Akishita M, Eto M. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation* 1995;92:3431-3435
81. Vogel RA, Coretti MC, Plotnick GD. Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healty subjects. *Am J Cardiol* 1997;79:350-354
82. Panza JA. Endothelial dysfunction in essential hypertension. *Clin. Cardiol.* 1997;Vol.20(suppl.II),II:26-33
83. Clarkson P, Montgomery H, Donald A. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:288A
84. Celermajer DS, Soronsen K, Georgkopulos D ve ark. Cigarette smoking is associated with dose related impairment of endothelium dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993;88:2149-2155
85. Soronsen K, Celermajer DS, Robinson J ve ark. Impairment of endothelium dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia. *J Clin Invest* 1994;93:50-55

86. Celermajer DS, Soronsen KE, Spiegelhalter DS ve ark. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:854-858
87. Celermajer DS, Soronsen K, Ryalls M ve ark. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:854-858
88. Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE ve ark. Impaired vascular reactivity in insulin dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:573-579
89. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Conelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: Biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Cur Opin Lipid.* 1996;7:69-76
90. Laplouse PM, Dantoine T, Chapman MJ. Paraoxonase as a risk marker for cardiovascular disease: Facts and hypotheses. *CCLM* 1998;36(7):431-41
91. Geldmacher V, Mallinckrodt M, Diepgen TL, Duhme C, Hommel G. A study of the polymorphism and ethnic distribution differences of human serum paraoxonase. *Am J Phys Antropol* 1983;62(3):235-41
92. Sutherland WHF, Walker RJ, JongSA, Van Rij AM, Philips V, Walker HL. Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. *Atheroscler Throm Vasc Biol* 1999;19:1340-47
93. Klimov AN, Gurevich VS, Nikiforova AA, Shatilina LV, Kuzmin AA, Plavinsky SL, Teryukova NP. Antioxidative activity of high density lipoproteins in vivo. *Atherosclerosis*. 1993 Apr;100(1):13-8
94. Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG. High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta*. 1990 May 22;1044(2):275-83
95. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low density lipoprotein. *FEBS lett* 1991;286(1-2):152-154
96. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest*. 1995 Dec;96(6):2882-91
97. Palmer B, Watson LE, Riggs MW, Lawrence M, Baisden CE, McNeal CJ, Macfarlane RD. Comparison of lipid and non-lipid markers of atherosclerosis in arterial versus venous blood. *Ann Clin Biochem*. 2003 May;40(Pt 3):286-8

98. Malin R, Jarvinen O, Sisto T, Koivula T, Lehtimäki T. Paraoxonase producing PON1 gene M/L55 polymorphism is related to autopsy-verified artery-wall atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2001 Aug;157(2):301-7
99. Tward A, Xia YR, Wang XP, Shi YS, Park C, Castellani LW, Lusis AJ, Shih DM. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation*. 2002 Jul 23;106(4):484-90
100. Ross R. Atherosclerosis: An inflammatory disease. *The N Eng J Med*. 1999;340(2):115-26
101. McElveen J, Mackness MI, Colley CM, Peard T, Warner S. Distribution of paraoxon hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem*. 1986;32(4):671-3
102. Mackness MI, Peuchant E, Dumon MF, Walker CH, Clerc M. Absence of 'A' esterase activity in the serum of a patient with Tangier Disease. *Clin Biochem* 1989;22(6):475-8
103. Mackness MI, Harty D, Batnagar D, Winocour PH, Arrol S, Isola M, Durrington PN. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolemia and insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991;86:193-199
104. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Fauli KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest*. 1995;96(6):2882-91
105. Aviram M. Does Paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease? *Molecular Med Today* 1999;5:381-386
106. Malin R, Knuuti J, Janatuinen T, Laaksonen R, Vesalainen R, Nuutila P, Jokela H, Laakso J, Jaakkola O, Solakivi T, Lehtimäki T. Paraoxonase gene polymorphisms and coronary reactivity in young healthy men. *J Mol Med*. 2001 Aug;79(8):449-58
107. Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, Roberts C, Durrington PN, Mackness MI. Paraoxonase status in coronary heart disease: Are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Sep;21(9):1451-7
108. Letellier C, Durou MR, Jouanolle AM, Le Gall JY, Poirier JY, Ruelland A. Serum paraoxonase activity and paraoxonase gene polymorphism in type 2 diabetic patients with or without vascular complications. *Diabetes Metab*. 2002 Sep;28(4 Pt 1):297-304
109. Stamler J. Blood pressure and high blood pressure. Aspects of risk. *Hypertension* 1991;18(suppl):1-2
110. Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC, VI) Guidelines for the Management of Hypertension. *Arch Intern Med* 1997;157:2413-66

- 111.1999 World Health Organization-International society Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. J Hypertens 1999;17:151-83
- 112.Froclich ED. Pathophysiology of systemic arterial hypertension. Hurst JW. 1994, New York, Mc Graw-Hill
- 113.Kaplan NM. Systemic hypertension. Mechanisms and diagnosis. Braunwald E. Heart disease. Philadelphia, WB Saunders Company, 1997:816-20
- 114.Beevers G, Lip G, O'Brein E. ABC of hypertension. The pathophysiology of hypertension. Clinical review. BMJ 2001;322 Apr: 912-16
- 115.Akıllı A. Hipertansiyon tanı. Sınıflama, klinik yaklaşım ve tetkikler. Önder MR, Akıllı A. ed. Hipertansiyon. İstanbul: Ladin matbaacılık, 1998:6-11
- 116.Özerkan F. Hipertansiyonun etiyopatogenezi. Kardiyoloji. Hipertansiyon özel sayısı 2000;1
- 117.De Fronzo R, Ferranini E. Insulin resistance: multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic disease. Diabetes Care 1991; 14: 173-943(5):329-32
- 118.Lip GY, Blann AD, Beevers DG. Prothrombotic factors, endothelial function and left ventricular hypertrophy in isolated systolic hypertension compared with systolic-diastolic hypertension. J Hypertens 1999 Aug;17(8):1203-7
- 119.Nathan DM. Long term complications of diabetes mellitus. N Engl J Med. 1993;328: 1676-1683
- 120.Harris MI, Hadden WC, Knowler WC, ve ark: Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance and plasma glucose levels in US population aged 20-74 years. Diabetes, 1987;36: 523-534
- 121.Rubin RJ, Altman WM, Mendelson DN: Health care expenditures for people with diabetes mellitus, 1992. J Clin Endocrinol Metab 1994;78:809A-809F
- 122.National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes 1979;28:1039-1057
- 123.DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E: Pathogenesis of NIDDM: A balanced overview. Diabetes care, 1992;15:318-368
- 124.Kahn C.R.: Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. Diabetes 1994;43: 1066-1084
- 125.Sacks DB, Mc Donald JM: The pathogenesis type II diabetes mellitus: A polygenic disease. Am. J. Clin. Pathol.1996;105:149-156
- 126.Pickup JC, Williams G. Textbook of diabetes. 1991 Oxford ,Blackwell

- 127.Hong CY, Chia KS, Ling SL. Urinary protein excretion in type 2 diabetes with complications. *J Diabetes and Its Compl.* 2000;14:259-265
- 128.Bayraktutan U. Free radicals, diabetes and endothelial dysfunction. *Diabetes, Obesity and Metab.* 2002;4:224-238
- 129.Tooke JE. Possible pathophysiological mechanisms for diabetic angiopathy in type 2 diabetes. *J Diabetes and its Compl* 2000;14:197-200
- 130.Juhan-Vague I, Alessi MC, Vague P. Increased plasma plasminogen activator inhibitor-1 levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. *Diabetologia.* 1991;34:457-462
- 131.Reaven GM, Lithell H, Lansberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities- the role of insulin resistance and sympathoadrenal system. *New Engl J Med.* 1996;334(6):374-381
- 132.DeFronzo R, Ferranini E. Insulin resistance: Multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic disease. *Diabetes Care* 1991; 14: 173-94
- 133.Anderson EA, Hoffman RP, Balon TW, Sinkey CA, Mark AL. Hyperinsulinemia produces both sympathetic neural activation and vasodilation in normal humans. *J Clin Invest* 1991;87:2246-52
- 134.Hall JE, Summers RL, Brands MW, Keen H, Alonso-Galicia M. Resistance to metabolic actions of insulin and its role in hypertension. *Am J Hypertens* 1994;7:772-88
- 135.Landin K, Tenborn L, Smith U. Elevated fibrinogen and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in hypertension are related to metabolic risk factors for cardiovascular disease. *J Intern Med* 1990; 227: 273-8
- 136.Niskanen L, Laasko M. Insulin resistance is related to albuminuria in patients with type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Metabolism* 1993;42:1541-5
- 137.Wollert KC, Drexler H. The renin-angiotensin system and heart failure. *Cardiovascular Research* 1999; 43:838-49
- 138.Unger T. The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2002;89(suppl):3A-10A
- 139.Dzau VJ, Re R. Tissue angiotensin system in cardiovascular medicine. A Paradigm shift? *Circulation* 1994;443-98
- 140.Önder MR. Anjiotensin II reseptör antagonistleri. *Hipertansiyon*, Önder MR ve Akıllı A ed. *Ladin Matbaacılık, İstanbul*, 1998: 161-5

- 141.Rogg H, Gasparo M, Graedel E, Stulz P, Burkart F, Eberhard M and Erne P. Angiotensin II receptor subtypes in human atria and evidence for alterations in patients with cardiac dysfunctions. *Eur Heart J* 1996; 17: 112-20
- 142.Canberk A. Hipertansiyon tedavisinde anjiotensin 2 reseptör antagonistleri. *Türkiye Klinikleri Kardioloji Hipertansiyon özel sayısı* 2000; 13(5):378-81
- 143.Unger T, Chung O, Csikos T, Culman J, Gallinat S, Gohlke P, Hohle S, Meffert S, Stoll M, Stroth U, Zho YZ. Angiotensin receptors. *J Hypertens* 1996;14(suppl 5):S95-S103
- 144.Chung O, Csikos T, and Unger U. Angiotensin II receptor Pharmacology and AT1 receptor blockers. *J Hum Hypertens* 1999;13:suppl 1:11-20
- 145.Vaughan DE. Angiotensin and vascular fibrinolytic balance. *Am J Hypertens*. 2002;15(1 Pt 2):3S-8S.
- 146.Felmeden D, LipG. The renin-angiotensin-aldosterone system and fibrinolysis. *JRAAS* 2000;1:240-4
- 147.Mac Fayden RJ, Mortan JJ, Prihgle SD, Struthers AD. How often are angiotensin II and aldosterone concentrations raised during ACE inhibitor treatment in cardiac failure? *Heart* 1999;82:57-61
- 148.McClelan KJ, Markham A. Telmisartan Adis New Drug Profile. *Drugs* 1998;5:1039-46
- 149.Lacourciere Y. A comparison in hypertensive patients receiving telmisartan, lisinopril or placebo. *Am J Hypertens*. 1998;11(4pt2):119
- 150.Wienen W, Huel N, van Meel JC, Narr B, Ries U, Enzeroth M. Pharmacological characterization of the novel nonpeptide angiotensin 2 receptor antagonist, BIBR 277. *British J Pharmacol*. 1993;110:245-252
- 151.Bories PN, Bories C. Nitrate determination in biological fluids by an enzymatic one step assay with nitrate reductase. *Clin Chem* 1995; 41/6,904-7
- 152.Mueller RF, Hornung S, Furlong CE, Anderson J, Giblett ER, Motulsky AG. Plasma Paraoxonase polymorphism: A new enzyme assay, population, family, biochemical and linkage studies. *Am J Hum Genet* 1983;35:393-408
- 153.Busse R, Fleming I. Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *J. Vasc Res*. 1996;33:181-194
- 154.Itoh H, Nakao K. Vascular stress response and endothelial vasoactive factors for vascular remodelling. *Diabetes Res and Clin Prac*. 1999;45:83-8
- 155.Moncada S, Higgs A. Mechanisms of disease: The L-arginine-nitric oxide pathway. *New Engl J Med* 1993;329:2002-12)

156. Stamler JS, Loh E, Roddy MA, Currie KE, Creager MA. Nitric oxide regulates basal systemic and pulmonary vascular resistance in healthy humans. *Circulation* 1994;89(5):2035-40
157. Kannel WB. Fifty years of Framingham study contributions to understanding hypertension. *J Hum Hypertens*. 2000;14:83-90
158. Cohen RA, Weisbrad RM, Gericke M et al. Mechanisms of nitric oxide-induced vasodilatation-refilling of intracellular stores by sarcoplasmic reticulum Ca ATPase and inhibition of store operated Ca influx. *Circ Res* 1999;84:210-219
159. Trepakova HS, Cohen RA, Bolotina VM. Nitric oxide inhibits capacitative cation influx in human platelets by promoting sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca ATPase dependent refilling of Ca stores. *Circ Res* 1999;84:201-209
160. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: An endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:4651-5
161. Tanner FC, Meier P, Greutert H, Champion C, Nabel EG, Lüscher TF. Nitric oxide modulates expression of cell cycle regulatory proteins-a cytostatic strategy for inhibition of human vascular smooth muscle cell proliferation. *Circulation* 2000;101:1982-9
162. Luscher TF, Tanner F, Tshunoli MR, Noll G. Endothelial dysfunction in coronary artery disease. *Ann Rev Med*. 1993;44:395-418
163. Moshage H, Kok B, Huizenga JR, Jansen PLM. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation. *Clin Chem*. 1995;41(69):892-6
164. Nava E, Llinas MT, Gonzalez JD, Salazar JF. Nitric oxide synthase activity in renal cortex and medulla of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1996;9:1236-39
165. Dishy V, Sofowora GG, Imamura H, Nishimi Y, Xie HG, Wood AJ, Stein CM. Nitric oxide production decreases after salt loading but is not related to blood pressure changes or nitric oxide vascular responses. *J Hypertens* 2003;21(1):153-7
166. Turi S, Friedman A, Bereczki C, Papp F, Kovacs J, Karg E, Nemeth I. Oxidative stress in juvenile hypertension. *J Hypertens* 2003;21(1):145-152
167. Cannon CM, Guzik TJ. Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *J Physiol Pharmacol* 2002;53(4 pt 1):515-24
168. Quaschning T, Kocak S, Bauer C, Neumayer HH, Galle J, Hoher B. Increase in nitric oxide bioavailability improves endothelial function in endothelin-1 transgenic mice. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(3):479-83

- 169.Cockcroft JR, Chowienczyk PJ, Benjamin N, Ritter JM. Preserved endothelium dependent vasodilatation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1994;330:1036-1040
- 170.Pieper GM, Jordan M, Adams MB, Roza AM. Restoration of vascular endothelial function in diabetes. *Diab Res and Clin Prac* 1996;31S:S157-S162
- 171.Montagnani M, Golovchenko I, Kim I, Koh GY, Goalstone ML, Mundhekar AN, Joansen M ve ark. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances mitogenic actions of insulin in endothelial cells. *J Biol Chem* 2002;277:1794-9
- 172.Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baro AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction: Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest* 1996;97:2601-10
- 173.Williams SB, Cusco JA, Roddy MA, Johnstone MT, Creager MA. Impaired nitric oxide-mediated vasodilatation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:567-574
- 174.Pieper GM, Langerstroer P, Siebeneich W. Diabetic induced endothelial function in rat aorta: Role of hydroxyl radicals. *Cardiovasc Res* 1997;34:145-156
- 175.Soronsen K, Celermajer DS, Spiegelhalter D. Noninvasive measurement of endothelium dependent arterial responses in man. *Br. Heart J* 1995;74:247-53
- 176.Vita JA, Keaney JF. Endothelial function: A barometer for cardiovascular risk?. *Circulation* 2002;106:640-642
- 177.Gokce N, Keaney JF Jr, Hunter LM, Watkins MT ve ark. Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003; 21:41(10):1769-75
- 178.Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ ve ark. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39:257-265
- 179.Hiltawsky KM, Wiegratz A, Enderle MD, Ermert H. Real-time detection of vessel diameters with ultrasound. *Biomed Tech (Berl)*.2003;48(5):141-6
- 180.Faulx MD, Wright AT, Hoit BD. Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning. *Am Heart J* 2003;145(6):943-51
- 181.Modena MG, Bonetti L, Coppi F, Bursi F, Rossi R. Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* 2002 ;40(3):505-10

182. Furumoto T, Saito N, Dong J, Mikami T, Fujii S, Kitabatake A. Association of cardiovascular risk factors and endothelial dysfunction in Japanese hypertensive patients: Implications for early atherosclerosis. *Hypertens Res* 2002;25(3):475-80
183. Sung J, Ouyang P, Bacher AC, Turner KL, DeRegis JR, Hees PS, Silber HA, Shapiro EP, Stewart KJ. Peripheral endothelium-dependent flow-mediated vasodilatation is associated with left ventricular mass in older persons with hypertension. *Am Heart J* 2002;144(1):39-44
184. Olsen MH, Wachtell K, Aalkjaer C, Dige-Petersen H, Rokkedal J, Ibsen H. Vasodilatory capacity and vascular structure in long-standing hypertension: a LIFE substudy. Losartan Intervention For Endpoint-Reduction in Hypertension. *Am J Hypertens* 2002;15(5):398-404
185. Muiesan ML, Salvetti M, Monteduro C, Corbellini C, Guelfi D, Rizzoni D, Castellano M, Agabiti-Rosei E. Flow-mediated dilatation of the brachial artery and left ventricular geometry in hypertensive patients. *J Hypertens*. 2001;19(3 Pt 2):641-7
186. A. Panza, P.R. Casino, C.M. Kilcoyne and A.A. Quyyumi, Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation* 1993;87:1468-1474
187. Erhardt LR. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease: The promise of blocking the renin-angiotensin system. *Int J Clin Pract*. 2003;57(3):211-8
188. Schiffrin EL; Canadian Institutes of Health Research Multidisciplinary Research Group on Hypertension. Beyond blood pressure: The endothelium and atherosclerosis progression. *Am J Hypertens*. 2002;15(10 Pt 2):115S-122S
189. Preiker M, Kelm M, Rosen P, Tschope D, Strauer BE. Additive effect of coexistent type 2 diabetes and arterial hypertension on endothelial dysfunction in resistance arteries of human forearm vasculature. *Angiol* 2000;51(7):545-554
190. Woodman RJ, Watts GF, Puddey IB, Burke V, Mori TA, Hodgson JM, Beilin LJ. Leukocyte count and vascular function in Type 2 diabetic subjects with treated hypertension. *Atheroscl* 2002;163(1):175-81
191. Rodrigo E ve ark. Endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats: Consequences of chronic treatment with losartan or captopril. *J Hypertens* 1997;15:613-618
192. Park B, Han H, Kim C. Losartan modifies nitric oxide-related vasorelaxation in isolated aorta of spontaneously hypertensive rats. *Korean J Pharmacol* 1995;30(3):337-342
193. Bayorh MA, Ganafa AA, Socci RR, Eatman D, Silvestrov N, Abukhalaf IK. Effect of losartan on oxidative stress-induced hypertension in Sprague-Dawley rats. *Am J Hypertens*. 2003;16(5):387-92

- 194.Hropot M, Langer KH, Wiemer G, Grotsch H, Linz W. Angiotensin II subtype AT(1) receptor blockade prevents hypertension and renal insufficiency induced by chronic NO-synthase inhibition in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2003;367(3):312-7
- 195.Costa LE, La-Padula P, Lores-Arnaiz S, D'Amico G, Boveris A, Kurnjek ML, Basso N. Long-term angiotensin II inhibition increases mitochondrial nitric oxide synthase and not antioxidant enzyme activities in rat heart. *J Hypertens* 2002;20(12):2487-94
- 196.Sidhu JS, Newey VR, Nassiri DK, Kaski JC. A rapid and reproducible on line automated technique to determine endothelial function. *Heart* 2002;88(3):289-92
- 197.Sonka M, Liang W, Lauer RM.. Automated analysis of brachial ultrasound image sequences: early detection of cardiovascular disease via surrogates of endothelial function. *IEEE Trans Med Imaging.* 2002;21(10):1271-9
- 198.De Roos NM, Bots ML, Schouten EG, Katan MB.. Within-subject variability of flow-mediated vasodilation of the brachial artery in healthy men and women: implications for experimental studies. *Ultrasound Med Biol.* 2003;29(3):401-6
- 199.Viberti GC, Jarrett R, Mahmud U, ve ark. Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1982;1:1430
- 200.Zelmanovitz T, Gross JL, Oliveita J. Proteinuria is still useful for the screening and diagnosis of overt diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 1998; 21:1076-79
- 201.Neil A, Hawkins M, Potok M, Thorogood M, Cohen D, Mann J. A prospective population based study of microalbuminuria as a predictor of mortality in NIDDM. *Diabetes Care* 1993;16:996-1003
- 202.Hong C, Chia KS, Ling SL. Urinary protein excretion in type 2 diabetes with complications. *J Diabetes Compl* 2000;14:259-265
- 203.Gerber LM, Johnson K, Alderman HM. Assessement of a new dipstick test in the screening for microalbuminuria in patients with hypertension. *Am J Hypertens* 1998;11:1321-27
- 204.Ponrtmoli R, Sofia A, Tirota A, Ravera M, Nicotella C, Viazzi F ve ark. The deletion polymorphism of the angiotensin-1 converting enzyme gene is associated with target organ damage in essential hypertension. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:2250-8
- 205.Deckert T, Kofoed-Enevoldsen A, Videl P ve ark. Size and charge selection in glomerular filtration in type 1 diabetic patients with and without albuminuria. *Diabetologia* 1993;36:244-51
- 206.Spijkerman AMW, Dekker JM, Nijpels G, Jager P ve ark. Impact of diabetes duration and cardiovascular risk factors on mortality in type 2 diabetes:the Hoorn Study. *Eur J Clin Invest* 2002;32:924-930

- 207.Suzuki K, Souda S, Ikarashi T ve ark. Renoprotective effects of low-dose valsartan in type 2 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diab Res Clin Prac* 2002;57:179-183
- 208.Brenner BM, Cooper ME, Zeeuw EE ve ark. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 2001;345:862-869
- 209.Parving HH, Lehnert H, Brochner-Mortensen J ve ark. The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2001;345:870-878
- 210.Ruiz J, Blanche H, James RW ve ark. Gln-Arg 192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes. *Lancet* 1995;346:869-72
- 211.Arca M, Ombres D, Montali A, Campagna F ve ark. PON-1 L55 M polimorphism is not a predictor of coronary atherosclerosis either alone or in combination with Q192R polymorphism in an Italian population. *Eur J Clin Invest* 2002;32(1):9-15
- 212.Rice GI, Ossei-Gerning Ni Stickland MH, Grant PJ. The paraoxonase Gln-Arg 192 polymorphism in subjects with ischaemic heart disease. *Coron Artery Dis* 1997;8(11-12):677-82
- 213.Hegele RA, Connelly PW, Scherer SW ve ark. Paraoxonase-2 gene (PON-2) G148 variant associated with elevated fasting glucose in non noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3373-7
- 214.Kopprasch S, Pietzsch J, Kuhlisch E, Graessler J. Lack of association between serum paraoxonase-1 activities and increased oxidised low-density lipoprotein levels in impaired glucose tolerance and newly diagnosed diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol* 2003;88(4):1711-6
- 215.Sözmen B, Delen Y, Girgin FK, Sözmen EY. Catalase and paraoxonase in hypertensive type 2 diabetes mellitus:correlation with glycemic control. *Clin Biochem* 1999;32(6):423-27
- 216.Furumoto T, Saito N, Dong J, Mikami T, Fujii S, Kitabatake A. Assosiation of cardiovascular risk factors and endothelial dysfunction in Japanese hypertensive patients: implications for early atherosclerosis. *Hypertens Res* 2002;25(3):475-80
- 217.Jern S, Wall U, Bergbrant A, Selin-Sjogren L, Jern C. Endothelium-dependent vasodilation and tissue-type plasminogen activator release in borderline hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(12):3376-83
- 218.Markis TK, Tsoukala C, Krespi P, Hatzizacharias A, Gialeraki A, Papargyriou J, Votteas V, Mandalaki T. Haemostasis balance disorders in patients with essential hypertension. *Thromb Res* 1997;88(2):99-107

- 219.Eliasson M, Jansson JH, Nilsson P, Asplund K. Increased levels of tissue plasminogen activator antigen in essential hypertension. A population based study in Sweden. *J Hypertens* 1997;15(4):349-56
- 220.Poli KA, Tofler GH, Larson MG, Evans JC, Sutherland PA ve ark. Association of blood pressure with fibrinolytic potential in the Framingham offspring population. *Circ* 2000; 101(3):264-9
- 221.Jansson J-H, Johansson B, Doman K, Nilsson TK. Hypofibrinolysis in patients with hypertension and elevated cholesterol. *J Intern Med* 1991;229:309-16
- 222.Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet* 1993;341:1165-8
- 223.Trifiletti A, Lasco A, Scamardi R, Cincotta M, Gaudio A, Barbera N, Frisina N. Hemostasis and fibrinolysis factors in first-degree relatives of patients with type II diabetes without hypertension. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002;32(3):127-30
- 224.Bastard JP, Pieroni L, Hainque B. Relationship between plasma plasminogen activator inhibitor 1 and insulin resistance. *Diabetes Metab Res Rev* 2000;16(3):192-201
- 225.Marchesi E, Martignoni A, Tinelli C, Ravetta V, Resasco T ve ark. Plasminogen activator inhibitor 1 and carotid intima-media thickening in patients with newly detected primary hypertension. *J Cardiovasc Risk* 1999;6(6):363-9
- 226.Abbasi F, Mc Laghlin T, Lamendola C, Lipinska I, Tofler G, Reaven GM. Comparison of plasminogen activator inhibitor 1 concentration in insulin-resistant versus insulin-sensitive healthy women. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2818-21
- 227.Meigs JB, Mittleman MA, Nathan DM, Tofler GH, Singer DE, Murphy-Sheehy PM, Lipinska I, D'Agostino RB, Wilson PWF. Hyperinsulinemia, hyperglycemia, and impaired hemostasis: The Framingham Offspring Study. *JAMA* 2000;283:221-228
- 228.Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414:813-20
- 229.Festa A, D'Agostino R, Mykkanen L, Tracy RP, Zaccaro DJ, Haler CN, Haffner SM. Relative contribution of insulin and its precursors to fibrinogen and PAI-1 in large population with different states of glucose tolerance. The insulin resistance atherosclerosis study (IRAS). *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:568
- 230.Pandolfi A, Cetrullo D, Polishuck R, Alberta MM, Calafiore A ve ark. Plasminogen activator inhibitor type 1 is increased in the arterial wall of type II diabetic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1378-82

- 231.Standeven KF, Ariens RA, Whitaker P, Ashcroft AE, Weisel JW, Grant PJ. The effect of dimethylguanide on thrombin activity, FXIII activation, fibrin depolarization and fibrin clot formation. *Diabetes* 2002;51:189-97
- 232.Mohnathy P, Aljada A, Ghanim H, Tripathy D, Syed T, Hofmeyer D, Dandona P. Rosiglitazone improves vascular reactivity, inhibits reactive oxygen species (ROS) generation, reduces p47 phox subunit expression in mononuclear cells (MNC) and reduces C reactive protein (CRP) monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1): Evidence of a potent anti-inflammatory effect. *Diabetes* 2001;50(suppl 2):A68
- 233.Erdem Y, Usalan C, Haznedaroğlu IC ve ark. Effects of angiotensin converting enzyme and angiotensin receptor inhibition on impaired fibrinolysis in systemic hypertension. *Am J Hypertens* 1999;12(11 pt 1):1071-76
- 234.Katoh M, Egashira K, Mitsui T, Takeshita A, Narita H. Differential effects of imidapril and candesartan cilexetil on plasminogen activator inhibitor-1 expression induced by prolonged inhibition of nitric oxide synthesis in rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;35(6):932-6
- 235.Seljefflot I, Moan A, Kjeldsen S, Sandvik E, Arnesen H. Effect of angiotensin receptor blokade on fibrinolysis during hyperinsulinemia in patients with essential hypertension. *Hypertension* 1996; 27:1299-304
- 236.Hofmann MA, Kohl B, Zumbach MS, Borcea V, Bierhaus A, Henkels M, Amiral J ve ark. Hyperhomocyst(e)inemia and endothelial dysfunction in IDDM. *Diabetes Care* 1998 May;21(5):841-8
- 237.Nishinaga M, Ozawa T, Shimada K. Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparan sulfate expression in cultured porcine aortic endothelial cells. *J Clin Invest* 1993 Sep;92(3):1381-6
- 238.Salomaa V, Matei C, Aleksic N, Sansores-Garcia L, Folsom AR, Juneja H ve ark. Soluble thrombomodulin as a predictor of incident coronary heart disease and symptomless carotid artery atherosclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study: a case-cohort study. *The Lancet* 1999;353:1729-34
- 239.Nilsson TK, Hellsten G, Amiral J. Plasma thrombomodulin concentrations in relation to cardiovascular risk factors in population sample. *Blood Coag Fibrinolysis* 1993;4(3):455-8
- 240.Oida K, Takai H, Maeda H, Takahshi S, Tamai T, Nakai T, Miyaba S, Ishii H. Plasma thrombomodulin concentration in diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 1990;10(2):193-6
- 241.Mihara H, Murai A, Handa K, Saku K, Shirai K, Tanaka F, Arakawa K. Thrombomodulin levels in patients with coronary artery disease. *Artery* 1997;22(6):293-308
- 242.Trifiletti A, Barbera N, Scamardi R, Bagnatio L, Pizzoleo MA, Vevoso A, Lasco A, Pedulla M, Frisina N. Effects of medium-term antihypertensive therapy on

haemostatic parameters in patients with essential hypertension. *Haemostasis* 1997;27(1):35-8

243. Braun M, Pietsch P, Schrör K, Baumann G, Felix SB. Cellular adhesion molecules on smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 1999;41:395-401
244. Nakada MT, Amin K, Christofidou-Solomidou M, O'Brien CD, Sun J ve ark. Antibodies against the first immunoglobulin like domain of human platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) that inhibit PECAM-1-dependent homophilic adhesion block in vivo neutrophil recruitment. *J Immunol.* 164:452-462
245. Matsumoto K, Sera Y, Nakamura H, Ueki Y, Miyake S. Serum concentrations of soluble adhesion molecules are related to degree of hyperglycemia and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res and Clin Prac.* 2002;55:131-138
246. Chen NG, Holmes M, Reaven GM. Relationship between insulin resistance, soluble adhesion molecules, and mononuclear cell binding in healthy volunteers. *J Clin Met Endocrinol.* 1999;84:3485-89
247. Morigi M, Angioletti S, Imberti B, Donadelli R ve ark. Leukocyte endothelial interaction is augmented by high glucose concentrations and hyperglycemia in NF- κ B dependent fashion. *J Clin Invest.* 1998;101:1905-15
248. Howard G, O'Leary DH, Zaccaro D, Haffner M ve ark. Insulin sensitivity and atherosclerosis. *Circulation* 1996;96:1809-17
249. Jang Y, Lincoff AM, Plow EF, Topol EJ: Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 1994;24:1591-1601
250. Jagner A, van Hingsbergh VWM, Kostense PJ ve ark. Increased levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 are associated with risk of cardiovascular mortality in type 2 diabetes. The Hoorn Study. *Diabetes* 2000;49:485-491
251. Parissis JT, Venetsanou KF, Kalantzi MV, Mentziko DG ve ark. Serum profiles of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and c-c chemokines in hypertensive patients with or without significant hyperlipidemia. *Am J Cardiol.* 2000;85:777-9
252. Parissis JT, Korovesis S, Giazitzoglou ve ark. Plasma profiles of peripheral monocyte-related inflammatory markers in patients with plasma endothelin-1. *Int J Cardiol* 2002;83:13-21
253. Diep QN, El Mabrouk M, Cohn JS, Endemann D, Amiri F ve ark. Structure, endothelial function, cell growth, and inflammation in blood vessels of angiotensin 2 induced rats :role of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Circulation* 2002;105(19):2296-302
254. Suzuki K, Masawa N, Takatama M. The pathogenesis of cerebrovascular lesions in hypertensive rats. *Med Electron Microsc* 2001 Dec;34(4):230-9

- 255.Ferri C, Desideri G, Valenti M ve ark. Early up regulation of endothelial adhesion molecules in obese hypertensive men. Hypertension 1999;34:568-73
- 256.Jilma B, Li-Saw-Hee FL, Wagner OF, Beevers DG, lip GY. Effects of enalapril and losartan on circulating adhesion molecules and monocyte chemotactic protein-1.Clin Sci (Lond) 2002;103(2):131-6
- 257.Prasad A, Koh KK, Schenke WH, Mincemoyer R ve ark. Role of angiotensin 2 type 1 receptor in the regulation of cellular adhesion molecules in atherosclerosis. Am Heart J 2001;142(2):248-53
- 258.Cosentino F, Hishikawa K, Katusic ZS ve ark. High glucose increases NOS expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells. Circulation 1997;96:25-28

