



SIÇANLARDA N ω -NİTRO-L-ARJİNİN METİL ESTER İLE
OLUŞTURULAN HİPERTANSİYON MODELİNDE ANJİYOTENSİN II
TİP 2 RESEPTÖR AGONİSTİ COMPOUND 21 VE SODYUM-GLUKOZ
KO-TRANSPORTER-2 İNHİBİTÖRÜ EMPAGLİFLOZİN'İN
FARMAKOLOJİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mehmet ÇOLAK

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Onural ÖZHAN

Yüksek Lisans Tezi – 2024

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA N ω -NİTRO-L-ARJİNİN METİL ESTER İLE OLUŞTURULAN
HİPERTANSİYON MODELİNDE ANJİYOTENSİN II TİP 2 RESEPTÖR
AGONİSTİ COMPOUND 21 VE SODYUM-GLUKOZ KO-TRANSPORTER-2
İNHİBİTÖRÜ EMPAGLİFLOZİN'İN FARMAKOLOJİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Mehmet ÇOLAK

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Onural ÖZHAN

Tez Jüri Üyeleri
Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR
Doç. Dr. Onural ÖZHAN
Dr. Öğr. Üyesi Yeşim YENİ

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TYL-2022-3087 Proje numarası ile desteklenmiştir

MALATYA
2024

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

ETİK BEYAN

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak Doç. Dr. Onural ÖZHAN danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “Sıçanlarda Nω-Nitro-L-Arjinin Metil Ester ile Oluşturulan Hipertansiyon Modelinde Anjiyotensin II Tip 2 Reseptör Agonisti Compound 21 ve Sodyum-Glukoz Ko-Transporter-2 İnhibitörü Empagliflozin’in Farmakolojik Etkilerinin Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım esere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 15/08/2024

Mehmet ÇOLAK
İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hipertansiyon.....	3
2.1.1. Hipertansiyon Evreleri.....	3
2.2. Nω-Nitro-L-Arjinin Metil Ester.....	4
2.3. Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi	5
2.4. Compound 21.....	6
2.5. Empagliflozin.....	6
3. MATERYAL VE METOD.....	9
3.1. Etik Kurul İzni	9
3.2. Araştırmanın Yapıldığı Merkez	9
3.3. Grup Hayvan Sayılarının Belirlenmesi	9
3.4. Deney Hayvanlarının Özellikleri	9
3.5. Deney Hayvanlarının Yaşam Koşulları	9
3.6. İlaç Uygulaması	10
3.7. Deney Grupları	10
3.8. Deney Protokolü	11
3.9. Biyokimyasal Analizler	14
3.9.1. Malondialdehit Ölçümü	15
3.9.2. Glutasyon Ölçümü.....	15
3.9.3. Protein Miktarı Ölçümü	15
3.9.4. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü	15
3.9.5. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü	16
3.9.6. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü	16
3.9.7. Toplam Antioksidan Seviye ve Toplam Oksidan Seviye Ölçümü ile Oksidatif Stres İndeksi Hesaplanması.....	16

3.10. Histopatolojik Analizler.....	17
3.10.1. Histolojik Analizler.....	17
3.10.2. İmmünohistokimyasal Analizler.....	18
3.11. İstatistiksel Analizler	18
4. BULGULAR.....	19
4.1. Sıçanların Vücut Ağırlıkları.....	19
4.2. Sıçanların Kalp ve Böbrek Ağırlıkları	20
4.3. Sıçanların Metabolik Kafeste 24 Saatlik Su Tüketim ve İdrar Çıkış Miktarları	21
4.4. Sıçanların İnvazif Hemodinami ve EKG Ölçümleri.....	22
4.5. Biyokimyasal Bulgular	23
4.6. Histopatolojik Bulgular.....	30
4.6.1. Kalp.....	30
4.6.2. Torasik Aort.....	35
4.6.3. Böbrek.....	36
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR	53
EKLER.....	64
EK-1. Özgeçmiş.....	64
EK-2. Etik Kurul Onayı	65

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim sürecim ve çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden her an yararlandığım tez danışmanım Doç. Dr. Onural ÖZHAN'a, benimle bilgi ve tecrübelerini paylaşan değerli bölüm hocalarım Prof. Dr. Hacı Ahmet ACET, Prof. Dr. Hakan PARLAKPINAR ve Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR'e minnet ve teşekkürlerimi sunarım. Histopatolojik ve immünohistokimyasal analizlere katkı sunan Prof. Dr. Elif KARACA'ya, biyokimyasal analizlere katkı sunan Dr. Öğr. Üyesi Feyzi DOĞRU'ya, biyoistatistiksel analizlerin yapılmasına katkı sunan Arş. Gör. Dr. Zeynep KÜÇÜKAKÇALI'ya teşekkür ederim. Tez çalışmam kapsamında farmakolojik etkisini araştırdığım Compound 21 ilacını laboratuvarımıza hibe eden Vicore Pharma İlaç Şirketi'nden Prof. Dr. Anders Hallberg'e katkısından dolayı teşekkür ederim. TYL-2022-3087 proje kodu ile tez çalışmalarına maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, 2210-A Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında beni maddi olarak destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Ömür boyu desteğini hiç esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşim Merve ÇOLAK'a teşekkür ederim. Akademik kariyerimde desteklerini esirgemeyen değerli amcalarım Prof. Dr. Mehmet Cengiz ÇOLAK ve Prof. Dr. Cemil ÇOLAK'a, her an yanımda olan hayat arkadaşım Ecz. Merve Tuğçe ÇOLAK'a sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Sıçanlarda N^ω-Nitro-L-Arjinin Metil Ester ile Oluşturulan Hipertansiyon Modelinde Anjiyotensin II Tip 2 Reseptör Agonisti Compound 21 ve Sodyum-Glukoz Ko-Transporter-2 İnhibitörü Empagliflozin'in Farmakolojik Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Günümüzde yaygın olarak görülen HT'nin kalp, damar ve böbrek dokularındaki etkileri üzerine AT2 reseptör agonisti C21 ve SGLT-2 inhibitörü EMPA'nın tek tek ve kombine etkisini görmektir.

Materyal ve Metod: Sprague Dawley ırkı erkek sıçanlar 5 gruba ayrıldı. K; Deney süresince uygulanan ilaçların taşıt çözücülerini uygulandı, HT; 4 hafta boyunca %1 NaCl içeren içme suyu ve L-NAME eş zamanlı verildi, HT+C21; HT prosedürü paralel olarak uygulandı, 15-28. günler boyunca C21 verildi, HT+EMPA; HT prosedürü paralel olarak uygulandı, 15-28. günler boyunca EMPA verildi, HT+C21+EMPA; HT prosedürü paralel olarak uygulandı, 15-28. günler boyunca C21 ve EMPA eş zamanlı verildi. 27-28. günler metabolik kafeste sıçanların 24 saatlik idrarı toplandı. 28. gün etil karbamat anestezisi altında EKG, KB ve KH ölçümleri yapıldı. Protokol tamamlandıktan sonra intrakardiyak kan örneği ve otopsi yapılarak kalp, torasik aort ve böbrek dokuları alındı. Alınan bu dokular hassas terazi kullanılarak tartıldı.

Bulgular: 24 saatlik su tüketim ve idrar çıkış miktarı karşılaştırıldığında HT grubunda K grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur. KB_{sistol} değerleri karşılaştırıldığında HT grubunda K grubuna göre, HT+C21 grubunda HT grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur. Kalbin ve böbreğin histopatolojik incelemesinde HT grubu ile karşılaştırıldığında HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarında hasarın anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur.

Sonuç: Elde ettiğimiz veriler ışığında L-NAME ile sıçanlarda HT modelinin oluştuğu görülmüştür. C21 ve EMPA'nın tek tek ve kombine etkilerine bakıldığında kalp, böbrek ve damar dokusu üzerine olumlu sonuçları hemodinamik, biyokimyasal ve histopatolojik analizlerle görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Compound 21, Empagliflozin, Hipertansiyon, L-NAME, Sıçan.

ABSTRACT

Investigation of the Pharmacological Effects of Angiotensin II Type 2 Receptor Agonist Compound 21 and Sodium-Glucose Co-Transporter-2 Inhibitor Empagliflozin in the Hypertension Model Induced with N ω -Nitro-L-Arginine Methyl Ester in Rats

Aim: To see the individual and combined effects of AT₂ receptor agonist C21 and SGLT-2 inhibitor EMPA on effects of HT, which is common today, on the heart, vascular and kidney tissue.

Material and Method: Male rats of the Sprague Dawley breed were divided into 5 groups. K; Vehicle solvents of the drugs administered during the experiment were applied, HT; drinking water containing 1% NaCl and L-NAME were given simultaneously for 4 weeks, HT+C21; HT procedure was performed in parallel, C21 was given for 15-28 days, HT+EMPA; HT procedure was performed in parallel, EMPA was given for 15-28 days, HT+C21+EMPA; HT procedure was performed in parallel, C21 and EMPA were given simultaneously for 15-28 days. The 24-hour urine of the rats in the metabolic cage was collected on days 27-28. On 28th day, ECG, BP and HR measurements were taken under ethyl carbamate anesthesia. After the protocol was completed, intracardiac blood sample and autopsy were performed and heart, thoracic aorta and kidney tissues were taken. These tissues were weighed using a precision scale.

Results: When the 24-hour water consumption and urine output amount were compared, a significant difference was found in the HT group compared to the control group. When the KBsistol values were compared, a significant difference was found in the HT group compared to the control group, and in the HT+C21 group compared to the HT group. Histopathological examination of the heart and kidney found that damage was significantly reduced in the HT+C21, HT+EMPA and HT+C21+EMPA groups compared to the HT group.

Conclusion: In the light of the data we obtained, it was seen that the HT model was formed in rats with L-NAME. When considering the individual and combined effects of C21 and EMPA, positive results on heart, kidney and vascular tissue were observed by hemodynamic, biochemical and histopathological analyses.

Keywords: Compound 21, Empagliflozin, Hypertension, L-NAME, Rat.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
Ang II	: Anjiyotensin II
Ang I	: Anjiyotensin I
AT1	: Anjiyotensin II Tip 1 Reseptörü
AT2	: Anjiyotensin II Tip 2 Reseptörü
AU	: Arbitrary Unit
C21	: Compound 21
CAT	: Katalaz
DKB	: Diyastolik Kan Basıncı
EKG	: Elektrokardiyografi
EMPA	: Empagliflozin
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HE	: Hematoksilen ve eozin
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HT	: Hipertansiyon
K	: Kontrol
KB	: Kan Basıncı
KH	: Kalp Hızı
KY	: Kalp Yetmezliği
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
L-NAME	: N ω -Nitro-L-Arjinin Metil Ester
MDA	: Malondialdehit
msn	: Milisaniye
MT	: Masson trikrom
MI	: Miyokard Enfarktüsü
mmHg	: Milimetre Civa
Na⁺	: Sodyum
NaCl	: Sodyum Klorür

NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
P.O.	: Per Oral
RAAS	: Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi
SGLT-2	: Sodyum-Glukoz Ko-Transporter-2
SKB	: Sistolik Kan Basıncı
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TAS	: Toplam Antioksidan Seviye
TOS	: Toplam Oksidan Seviye
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Nitrik oksit sentezi.....	4
Şekil 2.2. Anjiyotensin II oluşumu	5
Şekil 2.3. Sodyum-Glukoz Ko-Transporter-2 inhibitörlerinin olumlu etkileri	7
Şekil 3.1. Nö-Nitro-L-Arjinin Metil Ester	10
Şekil 3.2. İdrar çıkışı ve su tüketimi tayini için kullanılan metabolik kafesler	12
Şekil 3.3. İnvazif hemodinami ve EKG ölçümü aşamasındaki bir deney görüntüsü	12
Şekil 3.4. EKG, kan basıncı ve kalp hızı örnek görüntü	13
Şekil 3.5. ST depresyonu (A) ve Blok (B) ve T negatif (C) örnek görüntü	13
Şekil 4.1. Sıçanların deneyin ilk ve son günündeki vücut ağırlıklarının karşılaştırılması	19
Şekil 4.2. Sıçanların kalp ve böbrek ağırlıklarının karşılaştırılması.....	20
Şekil 4.3. 28. Gün 24 saatlik su tüketim ve idrar çıkış miktarları	21
Şekil 4.4. İnvazif hemodinami ve EKG değerleri	22
Şekil 4.5. Kalp dokusu biyokimyasal analizleri	23
Şekil 4.6. Böbrek dokusu biyokimyasal analizleri	24
Şekil 4.7. Torasik aort dokusu biyokimyasal analizleri.....	25
Şekil 4.8. Hemogram analizleri	27
Şekil 4.9. Kanın biyokimyasal analizleri.....	28
Şekil 4.10. İdrarın biyokimyasal analizleri.....	29
Şekil 4.11. K grubunda kalp dokusunun longitudinal (A, B) ve transvers kesitleri (C, D) normal histolojik yapıda görülmekte A, C HE X400; B, D MT X400	30
Şekil 4.12. HT grubunda eozinofilik sitoplazmalı, koyu nükleuslu dejenere kardiyomiyositler (oklar) (A), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (yıldız) (B), hemoraji (oklar) (C) görülmekte HE A, B, X400; C, X200.....	31
Şekil 4.13. HT grubunda kolajen miktarında artış (yıldız) (A, B) görülmekte MT A, X200; B, X400	31
Şekil 4.14. HT+C21 grubunda inflamatuvar hücre infiltrasyonu (oklar) (A) görülmekte HE X200, hafif kolajen miktarında artış (oklar) (B) görülmekte MT X200..	32

Şekil 4.15. HT+EMPA grubunda inflamatuvar hücre infiltrasyonu (oklar) (A) görülmekte HE X200, hafif kolajen miktarında artış (oklar) (B) görülmekte MT X200	32
Şekil 4.16. HT+C21+EMPA grubunda inflamatuvar hücre infiltrasyonu (oklar) (A) görülmekte HE X200, hafif kolajen miktarında artış (oklar) (B) görülmekte MT X200	33
Şekil 4.17. K grubu (A) HT grubu (B), HT+C21 grubu (C), HT+EMPA grubu (D), HT+C21+EMPA grubu (E) AT2 (+) kardiyomiyositler görülmekte (oklar) X200	34
Şekil 4.18. K grubunda normal histolojik görünüm (A), HT grubunda elastik lamellerde düzensizlik ve dilatasyon görülmekte (yıldız), HT+C21 (C), HT+EMPA (D), HT+C21+EMPA (E) gruplarında normal histolojik yapıda gözlenmekte HE X400	35
Şekil 4.19. K grubunda glomerül (yıldız) (A) makula densa (ok), proksimal (p) ve distal (d) tübül yapıları normal olarak görülmekte (B) HE A, X200; B, X400	36
Şekil 4.20. HT grubunda intertübüler konjesyon (yıldız) ve hemoraji (oklar) (A), glomerüler kollaps (ok) ve infiltrasyon alanları (yıldız) (B), tübül hücrelerinde dejenerasyon (oklar) (C) ve intertübüler aralıklarda eosinofilik hyalin cast birikimi (yıldız) (D) görülmekte HE X200	37
Şekil 4.21. HT+ C21 grubunda glomerüler kollaps (oklar) ve inflamatuvar inflamasyon alanları görülmekte (yıldız) HE X200	38
Şekil 4.22. HT+EMPA grubunda küçük hemorajik alanlar (yıldız) ve tübül hücrelerinde dejenerasyon (oklar) görülmekte HE X200	39
Şekil 4.23. HT+C21+EMPA grubunda küçük hemorajik alanlar (yıldız) ve tübül hücrelerinde dejenerasyon (oklar) görülmekte HE X200	40
Şekil 4.24. K (A), HT (B), HT+C21 (C), HT+EMPA (D) ve HT+C21+EMPA (E) gruplarında AT2 (+) boyanan tübüller görülmekte (oklar) X200	41
Şekil 4.25. K (A), HT (B), HT+C21 (C), HT+EMPA (D) ve HT+C21+EMPA (E) gruplarında SGLT2 (+) boyanan hücreler (oklar) görülmekte X200	42

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Hipertansiyon evreleri.....	4
Tablo 4.1. Sıçanların vücut ağırlıkları.....	19
Tablo 4.2. Kalp ve böbrek ağırlıkları	20
Tablo 4.3. 28. gün 24 saatlik su tüketim ve idrar çıkış miktarları.....	21
Tablo 4.4. İnvazif hemodinami ve EKG değerleri	22
Tablo 4.5. Kalp dokusu biyokimyasal analizleri.....	23
Tablo 4.6. Böbrek dokusu biyokimyasal analizleri.....	24
Tablo 4.7. Torasik aort dokusu biyokimyasal analizleri	25
Tablo 4.8. Hemogram analizleri.....	26
Tablo 4.9. Kanın biyokimyasal analizleri	27
Tablo 4.10. İdrarın biyokimyasal analizleri	29
Tablo 4.11. Kalpteki histopatolojik hasar skoru (ortanca (min-maks))	34
Tablo 4.12. Böbrekteki histopatolojik hasar skoru (ortanca (min-maks))	42

1. GİRİŞ

Günümüzde kronik hipertansiyon (HT), dünya çapında yaygın bir şekilde görülen, potansiyel birçok riskin sebebi olan bir sağlık sorunudur. Bu hastalıkta kan basıncı (KB) sürekli olarak normalin üzerinde olduğundan böbrekler, kalp ve damarlar önemli ölçüde zarar görebilmektedir (1). Arteriyel damar yatağında yüksek KB, HT sebebiyle çok sayıda komplikasyona neden olabilir. En sık görülen komplikasyonlardan bazıları inme, miyokard enfarktüsü (MI), kalp yetmezliği (KY), böbrek hastalıkları ve retinopatidir. Bu nedenle hem klinik uygulamalar hem de akademik araştırma alanları açısından, HT'nin patofizyolojisinin kapsamlı bir şekilde araştırılması ve etkili tedavi yöntemleri oluşturulması günümüzde çok önemlidir. Hipotansiyon tipik olarak belirti vermediğinden, erken teşhis zordur. Ancak uzun süreli ve kontrolü sağlanamamış HT, yukarıda bahsedilen ciddi sonuçlara yol açabileceğinden, bu hastalıkta erken teşhis önem taşımaktadır. Buradan hareketle düzenli aralıklarla KB'nin ölçümü ve hekim kontrolü hasta için çok önemlidir. HT'nin tedavisinde, yaşam tarzı değişiklikleri ve ilaç tedavisi gibi farklı yaklaşımlarda bulunulabilir. Düzenli egzersiz, tuz alımının azaltılması, sigara kullanımının bırakılması ve sağlıklı bir beslenme programı, KB'yi istenen aralıkta tutmaya yardımcı olabilir. Ancak bu önlemlerin yeterli olmadığı durumlarda ilaç tedavisine başvurulması gerekebilir. HT'nin tedavisinde kullanılan ilaçlar arasında anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri, kalsiyum kanal blokerleri, beta blokerler, anjiyotensin reseptör blokerleri ve diüretikler sayılabilir (2–4).

Renin anjiyotensin aldosteron sistemi (RAAS), HT'nin patofizyolojisini etkiler. RAAS; KB'yi, elektrolit dengesini ve sıvı homeostazını düzenler. Vücutta KB'nin yükselmesi RAAS'ın aktivasyonu ile meydana gelen vazokonstriksiyon ve sodyum (Na^+) retansiyonu ile gerçekleşir (5). RAAS'ın ana molekülü olan anjiyotensin II (Ang II) başlıca iki tür reseptöre bağlanarak etkisini gösterir. Bunlardan ilki anjiyotensin II tip I reseptörü (AT1) iken ikincisi anjiyotensin II tip II reseptörü (AT2)'dür. AT1; hücre proliferasyonu, vazokonstriksiyon ve aldosteron salımı gibi HT ile bağlantılı birçok olayı başlatırken, AT2 genellikle bu etkilerin zıttı olan hücre farklılaşması, vazodilatasyon ve anti-inflamasyon gibi koruyucu etkiler gösterir (6,7).

HT tedavisinde son yıllarda yeni ajanlar geliştirilmiştir. AT2 agonisti olan Compound 21 (C21), bu ajanlardan biridir. AT2 vazodilatasyon, natriüretik ve anti-

inflatuar etkileri nedeniyle HT tedavisinde kullanım potansiyeli yüksek olan bir reseptördür (8). C21, AT2'yi aktive ederek bu olumlu etkileri sağlar ve HT'nin kontrolünde önemli rol oynar. C21'in farmakolojik etkileri arasında arteriyel dilatasyon, Na⁺ atılımı ve KB düşüşü sayılabilir. Bu etkiler, HT kontrolünde büyük faydalar sağlar.

Sodyum-Glukoz Ko-Transporter-2 (SGLT-2) inhibitörleri, HT tedavisinde etki potansiyeli yüksek bir farmakolojik gruptur. Bu gruptaki ilaçlar, böbreklerden glukozun geri emilimini engelleyerek kan glukoz düzeyini düşürür. Buna ek olarak SGLT-2 inhibitörlerinin kardiyovasküler ve renovasküler etkileri de vardır (9). Bu koruyucu etkilerinden dolayı, empagliflozin (EMPA) adlı SGLT-2 inhibitörü HT tedavisinde kullanım potansiyeli olan bir ajandır. EMPA, KB'yi düşürerek ve kardiyovasküler sistemi koruyarak glukoz ve Na⁺'nın böbreklerden geri emilimini azaltır. EMPA'nın bu etkileri, diyabetik ve non-diyabetik HT hastalarında kalp ve böbrek sorunlarını azaltabilir.

N^o-Nitro-L-Arjinin Metil Ester (L-NAME), vücutta nitrik oksit (NO) sentezini inhibe ederek endotel disfonksiyonu ve yüksek KB gibi hipertansif etkiler yaratır (10). Bu nedenle, sıçanlarda deneysel HT modeli oluşturulmak istenen çalışmalarda L-NAME sıklıkla kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörlerinden biri olan L-NAME ile indüklenen HT modelinde; HT'nin kalp, damar ve böbrek dokularında meydana getirdiği zararlı etkiler üzerine AT2 agonisti olan C21 ve SGLT-2 inhibitörü olan EMPA'nın hem tekbaşına hem de kombine farmakolojik etkilerini görmek ve bu etkilerin C21 ve EMPA tarafından nasıl düzenleneceğini incelemek amaçlanmıştır.

Deneysel çalışmamızın planlı bir şekilde yürütülmesi sonucunda elde edeceğimiz bulguların, HT'nin tedavisinde yeni yollar bulmaya yardımcı olacağını ve bu yeni yolların klinik ortamlarda HT'nin profilaksisinde ve tedavisinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hipertansiyon

Arteriyel KB'nin belirli aralıklarla ölçüldüğünde 140/90 milimetre cıva (mmHg)'nin üzerinde olması HT olarak tanımlanmaktadır. HT; KB hedeflenen aralıkta tutulamayan hastalarda kalp-böbrek yetmezliği, koroner-periferik arter hastalığı, hemorajik inme, tromboembolik inme ve aort diseksiyonu riskini artırarak hem hastalık hem de ölüm oranını yükseltmektedir. Obezite, beslenme alışkanlıkları, ileri yaş, fiziksel aktivite düzeyi ve diyabet gibi risk faktörleri HT'nin gelişimi ile önemli ölçüde ilişkilidir (11).

2.1.1. Hipertansiyon Evreleri

KB'nin şiddetine göre HT dört farklı evreye ayrılır ve bu evreler, hastanın tedavi planını belirlemede çok önemlidir. Bu dört evre;

Normal Kan Basıncı: Sistolik kan basıncı (SKB)'nin 120 mmHg'nin ve diyastolik kan basıncı (DKB)'nin 80 mmHg'nin altında olduğu evredir. Bireylerde kardiyovasküler sorunlara yakalanma riski bu evrede en düşüktür. Bu evredeki hastalarda yaşam tarzı değişiklikleri ile KB'nin sağlıklı aralıkta tutulması hedeflenir.

Yüksek Normal Kan Basıncı: SKB'nin 120-129 mmHg ve DKB'nin 80 mmHg'nin altında olduğu evredir. Bu evrede, bireylerde kardiyovasküler hastalılara yakalanma riski artmıştır. Tuz alımının azaltılması, alkol tüketiminin sınırlandırılması, kilo verme, meyve-sebze tüketiminin artırılması, ideal vücut kitle indeksinin korunması ve uygun egzersiz programı gibi yaşam tarzı değişiklikleri önerilmektedir.

Evre 1 Hipertansiyon: SKB'nin 130-139 mmHg veya DKB'nin 80-89 mmHg olduğu evredir. Bu evrede, bireylerde kardiyovasküler hastalıklar yakalanma ve hastalık riski daha da artmıştır. Yaşam tarzındaki değişikliklere ek olarak antihipertansif ilaç tedavisi de gerekmektedir. Tedavide kullanılacak ajanın kararı, hekim tarafından hastanın kardiyovasküler risk profiline dayanılarak verilir.

Evre 2 Hipertansiyon: SKB'nin 140 mmHg veya üzerinde veya DKB'nin 90 mmHg veya üzerinde olduğu evredir. Bu evrede, bireylerde kardiyovasküler hastalılara yakalanma ve hastalık riski çok yüksektir. Yaşam tarzı değişikliklerine ek olarak kombine antihipertansif ilaç tedavisi gerekmektedir. Hekim tarafından ilaç tedavisinde

genellikle iki veya daha fazla antihipertansif ajan kombinasyonu tercih edilmektedir (Tablo 2.1) (12).

Tablo 2.1. Hipertansiyon evreleri

Evre	SKB	DKB
Normal KB	<120 mmHg	<80 mmHg
Yüksek Normal KB	120-129 mmHg	<80 mmHg
Evre 1 HT	130-139 mmHg	80-89 mmHg
Evre 2 HT	≥ 140 mmHg	≥ 90 mmHg

Evre 2 HT'si olan hastalarda, kardiyovasküler sistem risk skorlarına bakılmaksızın, antihipertansif ilaç tedavisine hemen başlanması tavsiye edilmektedir. Evre 2 HT'si olan hastaların 3 ay içinde, evre 1 HT'si olan hastaların ise 3-6 ay içinde hedef KB aralığına ulaşmaları amaçlanmaktadır (13,14).

2.2. No-Nitro-L-Arjinin Metil Ester

NO; organ perfüzyonunu, KB ve vasküler tonusu düzenleyen önemli bir moleküldür. NO, endotel hücrelerinde NOS enziminin katalizlediği L-arginin'den sentezlenir (Şekil 2.1) (15).



Şekil 2.1. Nitrik oksit sentezi

L-NAME, hayvan deneylerinde yaygın olarak kullanılan bir NOS inhibitörüdür. L-NAME sıçanlarda deneysel HT modeli oluşturmak için bu grupta kullanılan ilk ajanlardan biridir (16). NOS'un kronik olarak inhibe edilmesi, endotel disfonksiyonuna yol açmakta ve adrenerjik uyarıcılara karşı vasküler yanıtların, perivasküler inflamasyonun ve renal Na⁺ tutulmasının artmasına neden olmaktadır. L-NAME ile indüklenen HT'ye RAAS, endotel kasılma faktörleri ve arteriyel remodelingin katkıda bulunduğu düşünülmektedir. L-arginin analoglarından L-NAME ile 4 hafta veya daha fazla süreli NOS inhibisyonu, KB'de önemli bir artışa yol açmaktadır. Yapılan çalışmalar, NOS inhibisyonu ile indüklenen HT modelinde kardiyak ve vasküler

hipertrofi ortaya çıktığını göstermektedir (17). Bunlara ek olarak HT gruplarında içme suyu ile tuz yüklemesi yapılması; HT şiddetini yükseltmekte ve başlangıç zamanını öne çekmektedir (18).

L-NAME, HT araştırmalarına ek olarak diğer kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinin aydınlatılmasında kullanılan bir ajandır. Örneğin, L-NAME uygulamasının sonucunda oluşan NO yetersizliği ile KY, MI ve ateroskleroz gibi deneysel hastalık modelleri oluşturulmaktadır. Bu deneysel modeller, hastalıkların gelişim süreçlerini ve potansiyel profilaksi-tedavi stratejilerini keşfetmede önemli katkılar sağlar (19–21).

Ayrıca, L-NAME böbrek fonksiyonları ve renal hastalıklar üzerine yapılan çalışmalarda kullanılmaktadır. NOS üzerine inhibitör etkisi bilinen L-NAME, böbrek fonksiyonlarında bozulmaya ve renal vasküler dirençte artışa sebep olur (22).

L-NAME ile NO yetersizliğinin etkilerini sıçanlar üzerinde modellemek ve bu durumun fizyolojik, biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlarını elde etmek kardiyovasküler ve renal hastalıkların araştırılması ile ilgili literatüre katkıda bulunacaktır.

2.3. Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi

Vücutta KB'nin düzenlenmesinde RAAS ciddi bir öneme sahiptir. Böbreklerde üretilen renin enzimi, bir dizi biyokimyasal reaksiyonla bu sistemi aktive eder. Karaciğerde bulunan anjiyotensinojen adlı bir protein, renin enzimi tarafından parçalanarak anjiyotensin I (Ang I)'e dönüştürülür. Sonrasında Ang I ACE tarafından aktif formu olan Ang II'ye dönüştürülür (Şekil 2.2) (23).



Şekil 2.2. Anjiyotensin II oluşumu

Bu sistemde, Ang II; KB'nin kontrolü, aldosteron salımı, renal tübüllerden Na⁺ reabsorpsiyonu, elektrolit-sıvı dengesinin sağlanması ve kardiyovasküler remodelingte kritik bir öneme sahiptir. Ang II, AT1'e ve AT2'ye bağlanır. Reseptörlere bağlanan Ang II; böbrekte, kardiyovasküler sistemde ve total periferik dirençte değişiklikler meydana getirir. AT1'e eşik konsantrasyonun üzerinde bağlanan Ang II; hipertansif, renal ve

hipertrofik etkiler meydana getirir (24). Buna karşılık, AT2'ye eşik konsantrasyonun üzerinde bağlanan Ang II; hipotansif, vasküler ve natriüretik etkiler meydana getirir. Ayrıca iskemik kalp hastalığı, KY ve kardiyak fibrozis gibi hastalıklarda AT2'nin ekspresyonu artar (25).

Yapılan deneysel çalışmalarda, AT2'nin uyarılmasının olumlu etkileri göz önünde bulundurularak, AT2 agonistlerinin inflamasyon, inme, anevrizma oluşumu, miyokardiyal fibrozis ve MI tedavisinde yararlı olabileceği öne sürülmüştür (26).

2.4. Compound 21

C21, AT2'nin selektif agonisti olarak bilinen bir ajandır. Ang II kardiyovasküler sistem üzerinde hem olumlu hem de olumsuz pek çok etkiye sahiptir. Ang II'nin bu etkileri selektif olduğu AT1 ve AT2'ye belirli konsantrasyonlar üzerinde bağlanması aracılığıyla meydana gelir. AT1; vazokonstriksiyon, aldosteron salınımı ve hücrel proliferasyonu gibi etkilere sebep olurken AT2 genellikle antiproliferatif, antiinflamatuvar ve vazodilatör etkilere neden olur (27).

Wan ve arkadaşları, ilk nonpeptid selektif AT2 reseptör agonisti olan C21'i 2004 yılında tanımlamışlardır (28). Bu ajan, nonselektif AT1 ve AT2 agonisti olan L-162313'ün moleküler modifikasyonu ile selektif AT2 agonistine dönüştürülmesi sonucunda elde edilmiştir (29).

Sıçanlarda Ang II ile AT2'nin uyarılmasının, HT'de KB'yi düşürdüğü rapor edilmiştir (30). Deneysel diyabetik nefropati modellerinde C21; inflamasyonu, renal fibrozis ve oksidatif stresi azaltarak koruyucu etkiler göstermiştir (31). Sıçanlarda monokrotalin ajanı kullanımı ile sağ ventrikül ve/veya pulmoner fibrozisine bağlı geliştirilen deneysel pulmoner HT modelinde C21, antiinflamatuvar ve antifibrotik etkiler göstermiştir (32).

C21, AT2'nin seçici bir agonisti olarak çeşitli hastalıklarda önemli bir profilaksi ve tedavi potansiyeline sahiptir. Kardiyovasküler ve renal hastalıklar üzerindeki olumlu etkileri, bu ajanın çalışmamızdaki kullanım potansiyelini göstermektedir.

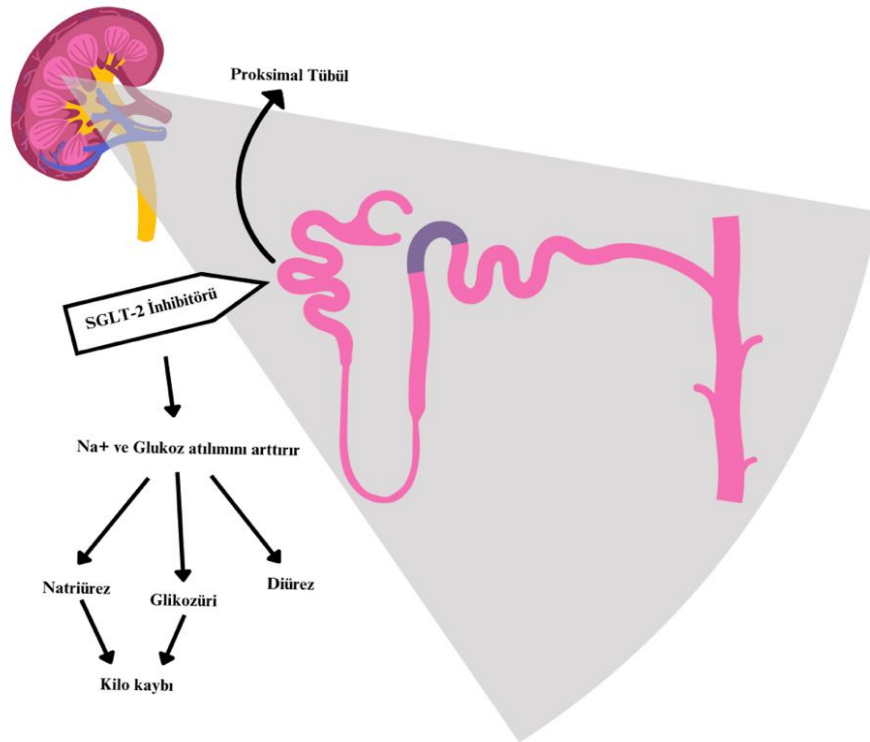
2.5. Empagliflozin

EMPA, SGLT-2 selektif inhibitörü olarak bilinen bir ajandır. SGLT-2 inhibitörleri, Na⁺ ve proksimal tübüldeki glukozun geri Emilimini azaltarak Na⁺ ve glukozun atılımını artırır ve buna bağlı olarak natriürez, diürez ve glukozüri meydana

gelir. SGLT-2 inhibitörlerinin neden olduğu natriürezin kalıcı olmadığı düşünülse de SKB’de ortalama 5-6 mmHg ve DKB’de ortalama 1-2 mmHg düşüşün sürekli olduğu bilinmektedir. Bu sayede SGLT-2 inhibitörleri KB’de azalmaya yol açar, ayrıca diürez ve natriürez oluşturması ile kardiyoprotektif ve renoprotektif etkiler gösterir (33).

Böbrekte, SGLT-2 inhibisyonu ile gerçekleşen natriürez makula densaya Na^+ ulaşmasını artırır, tubuloglomerüler uyarı ile efferent vazokonstriksiyonu ve glomerüler basıncı azaltır. SGLT-2 inhibitörleri bu intrarenal hemodinamik etkileri ile albuminüride %30-40 azalma sağlamaktadır. SGLT-2’nin hemodinamik pozitif etkileri renal disfonksiyon bulunduğu bile oluşmaktadır ve bu kronik böbrek yetmezliği, diüretik dirençli KY tanısı olan hastalarda ciddi fayda sağlayabilir. Diüretik etkisiyle KY hastalarında kalbin ön yükünde ve ventriküllerdeki doluluk basıncında azalma meydana getirmektedir. Bu sayede subendokardiyal kan akışını düzenlemektedir (34).

HT oluşumunun, KB’nin hedeflenen aralıkta tutulmaması ile yakından ilişkisi olduğu bilinmektedir. SGLT-2 inhibitörlerinin KB’yi düşürme ve diüretik etkileri HT önlenmesine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca SGLT-2 inhibitörlerinin neden olduğu glukozürinin ve natriürezin kilo kaybına yol açtığı bilinmektedir. Kilo kaybı HT için istenen bir metabolik etkidir (Şekil 2.3) (35).



Şekil 2.3. Sodyum-Glukoz Ko-Transporter-2 inhibitörlerinin olumlu etkileri

SGLT-2 inhibitörleri, iskemi/reperfüzyon sırasında endotel NO sentezini ciddi ölçüde artırır. Bu etkiye bağlı olarak SGLT-2 inhibitörleri endotele bağımlı vazodilatasyon şiddetinde artış meydana getirir (36). Ayrıca SGLT-2 inhibitörleri nefron düzeyinde glomerüler basıncı azalmaktadır. Bu afferent arteriyollerde meydana gelen vasokonstriksiyon ve renal tübülden glomerüle olan geri dönüş ile sağlanmaktadır. Bu mekanizma SGLT-2 inhibitörlerinin nefron düzeyindeki renoprotektif etkisini açıklamaktadır (37).

Tüm bu bilgiler ışığında EMPA, bir SGLT-2 inhibitörü olarak çeşitli hastalıklarda önemli bir profilaksi ve tedavi potansiyeline sahiptir. Kardiyovasküler ve renal hastalıklar üzerine olumlu etkilerinin yanında metabolik olumlu etkileri, bu ajanın çalışmamızdaki kullanım potansiyelini göstermektedir.

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Etik Kurul İzni

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na etik izin için başvuru yapıldı ve 09.11.2023 tarihli toplantıda 2023/11-2 karar sayısı ve 15130 HAYBİS numarası ile etik kurul izni alındı.

3.2. Araştırmanın Yapıldığı Merkez

Hayvanların bakımı ve ilaç uygulamaları İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde, cerrahi uygulamalar İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı Kardiyovasküler Farmakoloji Laboratuvarında hayvan refahına uygun şekilde yapıldı.

3.3. Grup Hayvan Sayılarının Belirlenmesi

Bu çalışmada etki büyüklüğü 2, testin gücü (1-beta) 0.9 ve tip I hata miktarı (alfa) 0.05 iken bu yöntemin kullanımı ile anlamlı fark bulunabilmesi için gereken minimum örneklem büyüklüğü her bir grup için 9 olmak üzere toplamda 45 olması gerektiği hesaplandı (Etki büyüklüğü: 2, Etki büyüklüğü yorumu: Yüksek, Anlamlılık düzeyi: 0.05, Güç: 0.9) (38). Mevcut tez araştırmasında toplam 48 sıçan alınarak deneyler gerçekleştirilmiştir.

3.4. Deney Hayvanlarının Özellikleri

Bu çalışmada 281-484 g ağırlığında yetişkin (6 aylık) 48 adet *Sprague Dawley* ırkı erkek sıçan kullanıldı. Deneyde dişi sıçanlarda belirli aralıklarda yüksek miktarda salgılanan östrojen hormonunun kardiyovasküler sistem üzerine koruyucu etkilerinin deney bulgularımızı maskeleymesini önlemek amacıyla erkek sıçanlar tercih edildi (39).

3.5. Deney Hayvanlarının Yaşam Koşulları

Deney süresince sıçanlar; $21\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, $55\pm5\%$ nem ve 12 saat ışık/karanlık döngüsü kullanılan odalarda tutuldu, 1% sodyum klorür (NaCl) içeren çeşme suyu - kontrol (K) grubundaki sıçanlara normal çeşme suyu verildi- ve 8 mm'lik standart pelet yem ile *ad libitum* olarak beslendi.

3.6. İlaç Uygulaması

%1 NaCl (Isolab Almanya; CAS numarası: 7647-14-5) için normal çeşme suyu, L-NAME (Sigma-Aldrich ABD; CAS numarası: 51298-62-5) ve C21 (Buloxibutid, Vicore Pharma AB İsveç; CAS numarası: 477775-14-7) için %0.9 izotonik solüsyon, EMPA (Jardiance®, Boehringer Ingelheim İlaç Tic. A.Ş. Türkiye) için ise distile su taşıyıcı çözücü olarak kullanıldı.

L-NAME 4 hafta boyunca intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı (40 mg/kg günde bir), %1 NaCl 4 hafta boyunca içme suyuna katıldı (40), C21 2 hafta boyunca i.p. olarak uygulandı (0.03 mg/kg günde bir) (41) ve EMPA 2 hafta boyunca per oral (p.o.) olarak gavaj kanülü ile uygulandı (7 mg/kg günde bir) (Şekil 3.1) (42).



Şekil 3.1. Nω-Nitro-L-Arjinin Metil Ester

3.7. Deney Grupları

Sprague dawley erkek sıçanlar basit randomize olarak beş gruba ayrıldı.

1) Kontrol Grubu (n:8)

Sadece taşıyıcı çözücüler uygulanarak NaCl içermeyen içme suyuna erişimleri ad libitum olarak sağlandı.

2) Hipertansiyon Grubu (n:10)

1-28. günler süresince 40 mg/kg L-NAME günde bir defa i.p. olarak uygulandı.

3) Hipertansiyon + Compound 21 Grubu (n:10)

1-28. günler boyunca 40 mg/kg L-NAME ve 15-28. günler arasında 0.03 mg/kg C21 günde bir defa i.p. olarak uygulandı.

4) Hipertansiyon + Empagliflozin Grubu (n:10)

1-28. günler süresince 40 mg/kg L-NAME günde bir defa i.p. olarak ve 15-28. günler arasında 7 mg/kg EMPA günde bir defa p.o. olarak uygulandı.

5) Hipertansiyon + Compound 21 + Empagliflozin Grubu (n:10)

1-28. günler süresince 40 mg/kg L-NAME günde bir defa i.p. olarak, 15-28. günler arasında 0.03 mg/kg C21 günde bir defa i.p. olarak ve 7 mg/kg EMPA günde bir defa p.o. olarak uygulandı.

Hipertansiyon oluşturulan grupların içme suyuna %1 NaCl eklenerek suya erişimleri *ad libitum* olarak sağlandı.

3.8. Deney Protokolü

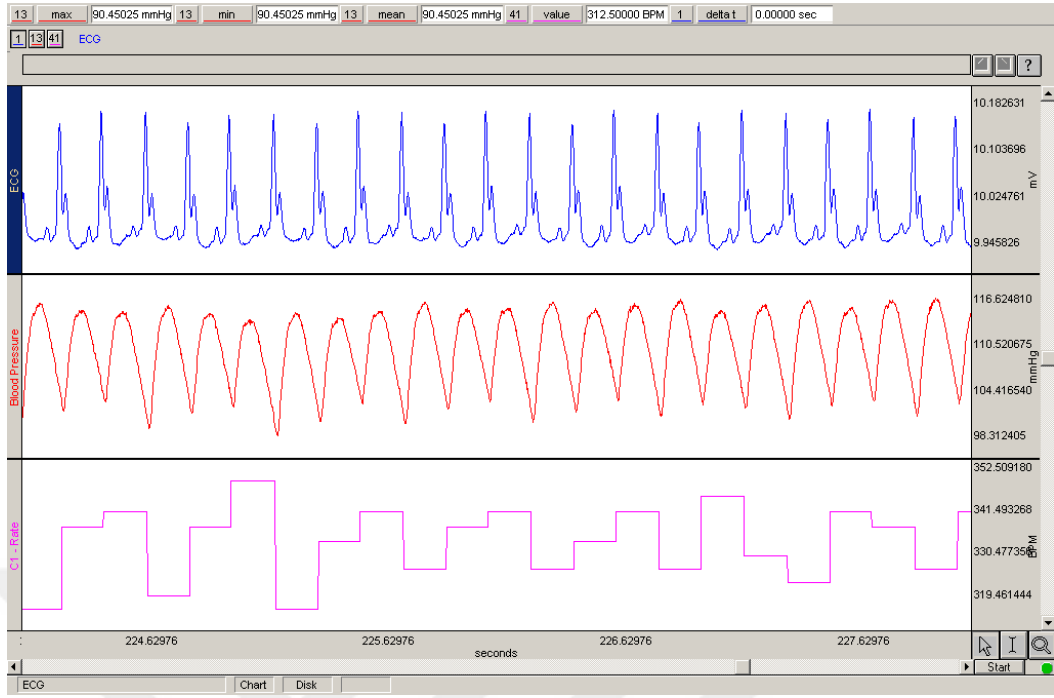
Deneyin 1. ve 28. günü sıçanların vücut ağırlıkları ölçüldü. Deneyin 27. gününde sıçanlar metabolik kafese konularak 24 saat süresince idrar ve su tüketim miktarları kaydedildi (Şekil 3.2). Deney protokolünün son günü (28. gün) 1.2 g/kg etil karbamat (Urethane®, Sigma-Aldrich ABD; CAS numarası: 51-79-6)'ın distile su ile hazırlanmış çözeltisi kullanılarak i.p. anestezi yapıldı. Anestezi altındaki sıçanların; hemodinamik ölçümleri karotis arter kanülasyonu ile invazif olarak yapıldı (43) ve elektrokardiyografik değişiklikleri izlemek için 3 derivasyonlu elektrokardiyografi (EKG) elektrotları kullanıldı. Anestezi esnasında sıçanların vücut ısılarını koruyabilmesi için rektal problu ısıtıcı kullanıldı. Kalp hızı (KH), KB ve EKG ölçümleri Biopac MP-100 veri kayıt ve işleme sistemi kullanılarak üçer dakika kaydedildi (Şekil 3.3 ve 3.4) (44). Alınan hemodinami kayıtlarından Lambeth Convention kriterlerine uygun olarak; hem milisaniye (msn) cinsinden PR, QRS ve QT interval süreleri, hem de aritmi çeşitliliği hesaplandı (45). Ölçümler tamamlandıktan sonra intrakardiyak kan alınıp otopsi yapılarak kalp, torasik aort ve böbrek dokuları toplandı. Toplanan bu dokular hassas terazi kullanılarak tartıldı. Toplanan bu dokular biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler için simetrik olarak kesildi. Toplanan dokular ve kan serumları, biyokimyasal analizleri yapılmaya kadar Kardiyovasküler Farmakoloji Laboratuvarındaki -80 °C derin dondurucuda uygun paketlerde konularak muhafaza edildi.



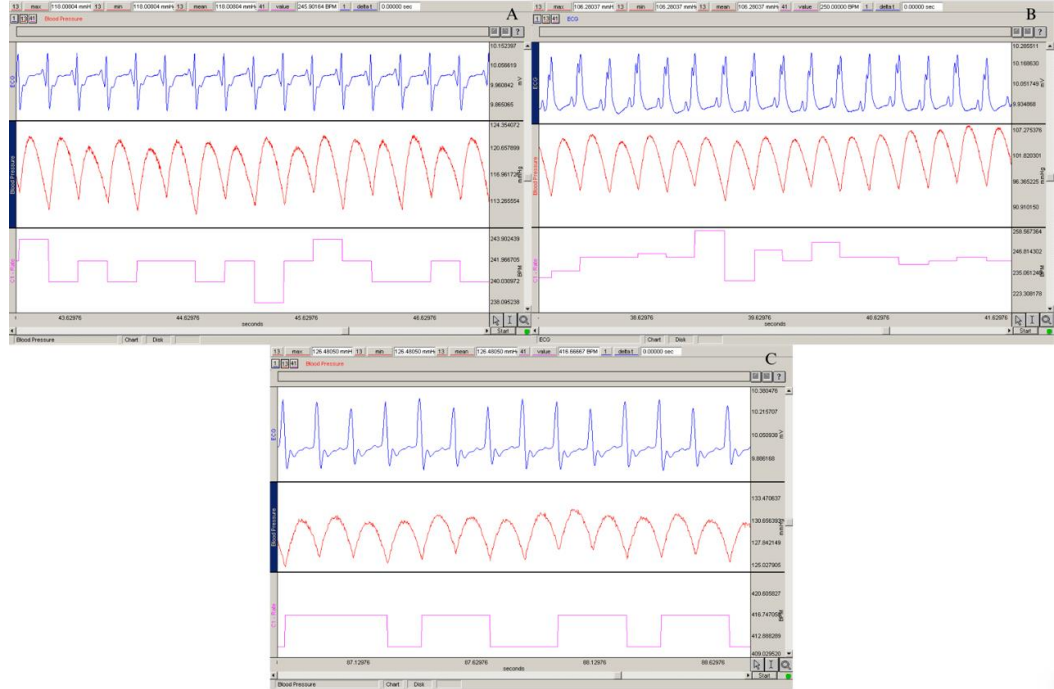
Şekil 3.2. İdrar çıkışı ve su tüketimi tayini için kullanılan metabolik kafesler



Şekil 3.3. İnvazif hemodinami ve EKG ölçümü aşamasındaki bir deney görüntüsü



Şekil 3.4. EKG, kan basıncı ve kalp hızı örnek görüntü



Şekil 3.5. ST depresyonu (A) ve Blok (B) ve T negatif (C) örnek görüntü

3.9. Biyokimyasal Analizler

-80°C derin dondurucuda muhafaza edilen dokular bir gece +4 °C buzdolabında bekletilerek analiz için çözünmesi sağlandı. Analizin başında dokular kandan arındırılmak için Tris-HCl tamponu (pH 7.4) bulunan cam behere daldırılıp durulandı ve ağırlıkları not edildi. Sonrasında cam deney tüplerine alınan dokuların üzerine Tris-HCl tamponu (pH 7.4) eklenip 60 saniye süresince İKA-WERKE T 25 B marka cihaz ile homojenize edildi. Sonrasında dokular üzerine bir miktar daha tampon solüsyonu eklenerek 60 saniye daha homojenizasyon yapıp homojenizasyon tamamlandı. Elde edilen homojenatın bir kısmı analiz için kullanılmak üzere ayrıldı. Kalan homojenat Hettich D 78532 marka soğutuculu santrifüj cihazında +4°C’de 4000 rpm hızda 45 dakika süre ile santrifüj edildi. Daha sonra tüpün üstünde kalan berrak kısım süpernatant ile yapılan analizler için kullanılmak üzere ayrıldı. Bu işlemler sonrası malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), protein miktarı ölçümü, glutatyon peroksidaz (GPx), toplam antioksidan seviye (TAS), toplam oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) analizleri yapıldı. İlgili analizlerin spektrofotometrik okumaları SHIMADZU UV-160A ve BİOTEK SYNERGY LX multi-mode reader marka cihazla yapıldı.

Kanda yapılan hemogram ve biyokimyasal analizler; bazofil (BA), eozinofil (EO), hematokrit (HCT), hemoglobin (HGB), immünoglobülin G (IGG), lenfosit (LY), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), ortalama eritrosit hacmi (MCV), monosit (MO), ortalama trombosit hacmi (MPV), nötrofil (NE), çekirdekli kırmızı kan hücreleri (NRBC), trombosit büyük hücre oranı (PLCR), prokalsitonin (PCT), trombosit dağılım genişliği (PDW), trombosit (PLT), kırmızı kan hücreleri (RBC), kırmızı kan hücre dağılım genişliği varyasyon katsayısı (RDWCV), kırmızı kan hücrelerinin boyut dağılımının standart sapması (RDWSD), beyaz kan hücreleri (WBC), kreatin kinaz (CK), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol, kalsiyum, klor, kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol, magnezyum, potasyum, Na⁺, trigliserid, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) kolesterol ve idrarda yapılan biyokimyasal analizler; kreatinin, glukoz, kalsiyum, potasyum, Na⁺, ürik asit İnönü Üniversitesi, Turgut Özal Tıp Merkezi Merkezi, Merkez Laboratuvarı’nda hizmet alımı şeklinde tamamlanmıştır.

3.9.1. Malondialdehit Ölçümü

MDA, spektrofotometrik olarak Uchiyama ve Mihara yöntemiyle ölçüldü. Bu yöntem, lipid peroksidasyon ürünü MDA ile tiyobarbitürik asidin 95°C'de muamele görmesine dayanmaktadır. Numunelere uygulanan işlemler sonrasında tüplerde üste çıkan n-butanol fazı spektrofotometre kullanılarak 535 ve 520 nm dalga boyunda okundu. Numunelerden elde edilen değerler nmol/g doku cinsinden ifade edildi (46).

3.9.2. Glutasyon Ölçümü

Homojenattaki GSH konsantrasyonu, spektrofotometrik olarak Ellman yöntemiyle ölçüldü. Homojenat numuneleri, 17.5 M etilen diamin tetraasetik asit ve 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.5) karışımı bulunan tüplerde 10 mM 5,5-ditiobis (2-nitrobenzoik asit) ile karıştırıldı. Reaksiyonu başlatmak için 0.4 mM NADPH ve 0.5 birim glutasyon redüktaz (GR) eklendi. Numunelerin absorbansları, reaksiyon başladıktan 5 dakika sonra spektrofotometre ile 410 nm dalga boyunda ölçüldü. Ölçülen absorbanslar kullanılarak GSH konsantrasyonu için standart bir eğri oluşturuldu. Numunelerden elde edilen değerler $\mu\text{mol/g}$ doku cinsinden ifade edildi (47).

3.9.3. Protein Miktarı Ölçümü

Çalışılan diğer yöntemlere ait verilerin hesaplanabilmesi için modifiye Lowry yöntemi ile protein miktarı analizi yapıldı. Numunelerin bulunduğu alkali bakır-protein çözeltisi içine folin reaktifi eklenip karışım vortekslendi. Yapılan bu işlemler ile folin reaktifinin parçalanmadan önce indirgenmesi sağlandı. Standartlar ve numunelerin absorbansları 750 nm dalga boyunda okundu. Ölçülen absorbanslar kullanılarak standart bir eğri oluşturuldu. Numunelerden elde edilen değerler $\mu\text{g/mL}$ cinsinden ifade edildi (48).

3.9.4. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü

SOD aktivitesi spektrofotometrik olarak Sun ve arkadaşlarının yöntemiyle ölçüldü. SOD aktivite testi Nitroblue Tetrazolium Chloride (NBT) indirgenmesinin inhibisyonu prensibine dayanmaktadır. Formazonun absorpsiyon değeri, 560 nm dalga boyunda ölçüldüğünde SOD aktivitesi ile ters orantılıdır. Numunelerden elde edilen değerler U/g protein cinsinden ifade edildi (49).

3.9.5. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü

CAT aktivitesi spektrofotometrik olarak Aebi'nin yöntemiyle ölçüldü. Test, 240 nm dalga boyunda hidrojen peroksit (H_2O_2) ayrışma hızının veya hız sabitinin (k , s^{-1}) belirlenmesine dayanmaktadır. Deney tüpü içerisinde hazırda bulunan taze H_2O_2 çözeltisine numune süpernatantlarının eklenmesiyle ayrışma anında başlar. Bu ayrışmanın meydana getirdiği değişiklik spektrofotometrede izlenmektedir. Bu değişiklikler belirlenen bir süre boyunca takip edilerek absorbans değişimiyle hesaplanan aktivite ile hız sabiti bulunmaktadır. Numunelerden elde edilen değerler K/g protein cinsinden ifade edildi (50).

3.9.6. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü

GPx aktivitesi spektrofotometrik olarak Paglia yöntemiyle ölçüldü. NADPH, GR, sodyum azid ve indirgenmiş glutasyon bir tüpe eklendi. Sonrasında bu tüpe süpernatant eklenerek inkübasyona bırakıldı. Enzimatik reaksiyon deney tüplerine H_2O_2 ilavesiyle başlatıldı. Reaksiyon 340 nm dalga boyunda spektrofotometre ile belirli bir süre takip edildi. Bu süreçte absorbans değişimi izlenerek hesaplanan aktivite değerleri, U/mg protein cinsinden ifade edildi (51).

3.9.7. Toplam Antioksidan Seviye ve Toplam Oksidan Seviye Ölçümü ile Oksidatif Stres İndeksi Hesaplanması

TAS ve TOS ölçümleri için özel olarak üretilmiş Rel Assay Diagnostics (MEGA TIP San. Tic. Ltd. Sti.) marka kitlerle kılavuzdaki adımlara uygun şekilde yapıldı.

TAS, elde edilen süpernatant kullanılarak Erel yöntemine göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Yöntem H_2O_2 varlığında ABTS molekülünün okside olarak $ABTS^+$ molekülüne dönüşmesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntemde 2,2 ‘-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radikali (ABTS kökü) kullanılmaktadır. ABTS kökü, ortamda bulunan antioksidan kapasite ve antioksidan miktarına göre yeşil-mavi rengini kaybetmektedir. 660 nm dalga boyunda yeşil-mavi renk değişikliği ölçülerek veriler elde edilmektedir. Numuneler içindeki antioksidan miktarı ile yeşil -mavi renk değişimi arasında ters orantı bulunmaktadır. Yöntemde reaksiyon hızı, Trolox ile ayarlanmaktadır. Birimi mmol Trolox equivalent/L’dir.

TOS ölçümü, elde edilen süpernatant kullanılarak Erel yöntemine göre kolorimetrik olarak ölçüldü. Yöntem oksidanların ferröz iyon-o-dianisidine

kompleksinin ferrik iyonla okside olması esasına dayanmaktadır. Reaksiyon ortamında gliserol molekülünün bulunması oksidasyonun gerçekleşebilmesi için gereklidir. Asidik ortamda xylenol orange kromojeniyle ferrik iyonları renkli bir kompleks oluşturur. 530 nm dalga boyunda bu kompleksin yoğunluğu spektrofotometre ile ölçülür. Birimi $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent /L'dir.

OSİ TOS'un TAS'a bölünmesi ile hesaplanmaktadır. Birimi arbitrary unit (AU) ile ifade edilmektedir (52).

3.10. Histopatolojik Analizler

3.10.1. Histolojik Analizler

Histopatolojik değerlendirme için sıçanların kalp, aort ve böbrek dokuları 3-4 mm'lik parçalara bölündü. Bölünen parçalar plastik doku takip kasetlerinin içine yerleştirip kasetlerin ağzı kapatılarak %10'luk formaldehit bulunan ortam içerisinde 24 saat süre boyunca bekletilerek dokunun fiksasyonu sağlandı. Fiksasyon işlemi tamamlandıktan sonra 24 saat boyunca sürekli akan çeşme suyunda dokular yıkandı. Yıkama işleminin ardından dereceli alkollerde dehidrate edilen dokular, ksilen kullanılarak şeffaflaştırıldıktan sonra parafine gömüldü. Donan parafin bloklardan 5'er mikron'luk kesitler Leica RM2145 marka mikrotom cihazı yardımıyla alındı. Hematoksilen ve eozin (HE) kesitlerin genel histolojik yapısını gözlemlemek amacıyla, masson trikrom (MT) kesitlerde kolajen artışını izlemek amacıyla, immünohistokimyasal boyama yöntemleri ise anti-AT2 ve anti-SGLT2 aktivitesini gösterebilmek amacıyla kesitlere uygulandı. X40 objektif kullanılarak preparatların 10 farklı alanı incelendi. Kalp, aort ve böbrek hasarının şiddeti histopatolojik olarak skorlandı. Skorlamada kardiyak hasar; kardiyomiyositlerde hemoraji, eozinofilik sitoplazmalı, koyu nükleuslu dejenere kardiyomiyositler, kolajen artışı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu, renal hasar; intertubuler hemoraji, konjesyon, peritubuler infiltrasyon, glomerüler kapiller kollaps, tübül hücrelerinde dejenerasyon ve intertübüler aralıklarda eosinofilik hyalin cast birikimi parametreleri yönünden değerlendirildi. Dokuların mikroskopik hasar skoru, tüm kriterlere verilen hasar skorlarının toplanması ile hesaplandı. Puanlar tüm kriterler için 0, yok; 1, hafif; 2, orta ve 3, şiddetli şeklinde baz alınarak skorlandı. Leica DFC280 ışık mikroskobu kullanılarak incelenen preparatların, Leica Q (Leica Micros Imaging solution Ltd, Cambrige, UK) görüntü analiz sistemi yardımıyla fotoğrafları çekildi.

3.10.2. İmmünohistokimyasal Analizler

İmmünohistokimyasal analizlerde kullanılacak kesitler sırayla deparafinizasyon ve rehidrasyondan sonra 2100 Antijen Retriever inkübatöründe 0.01 M sitrat tamponunda (pH 6.0) 20 dk süre boyunca kaynatıldı. Kesitlere 12 dakika süresince %3 H₂O₂ uygulanmasıyla endojen peroksidaz enzim aktivitesini bloke edilmiştir. PBS ile yıkanan kesitler, beş dakika boyunca ultra V blok olarak da bilinen protein blok uygulaması ile muamele edildi. Bu işlemde sonra kesitler primer antikor ile 60 dakika boyunca 37 °C'de inkübe edildi. PBS ile yıkanan kesitlere 37 °C'de biotinli sekonder antikor 10 dakika süresince uygulandı. Sonrasında kesitler 37 °C'de streptavidin peroksidaz ile 10 dk süresince inkübe edildi. Sonrasında kromojen uygulamasının ardından, su bazlı kapatıcı ile HE yöntemiyle boyanmış kesitler kapatıldı. Boyanma semikantitatif olarak immünreaktivitenin yaygınlığı (0: 0-%25, 1: %26-50, 2: %51-75, 3: %76-100) ve şiddeti (0: yok, +1: hafif, +2: orta, +3: şiddetli) baz alınarak skorlandı. Yaygınlık ve şiddet değeri çarpılarak toplam boyanma skoru elde edildi.

3.11. İstatistiksel Analizler

Sıçanların vücut, kalp ve böbrek ağırlık, metabolik kafes, invazif hemodinami ve EKG, biyokimyasal ve histopatolojik verileri ortanca (minimum-maksimum) ile özetlenmiştir. Kruskal-Wallis testi veri setinde yer alan gruplarda gözlem sayısı 10'dan az olduğu için kullanılmıştır. İlgili test, gruplar arasındaki ortanca değerlerinin anlamlı farklılık gösterip göstermediğini değerlendirmek için kullanılan parametrik olmayan bir testtir. Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi grupların ikili olarak karşılaştırmalarında kullanılmıştır. Söz konusu test, ikişerli gruplar arasında ortanca değerlerinin karşılaştırılmasında kullanılan parametrik olmayan bir testtir. Bonferroni düzeltmesi ise, birden fazla karşılaştırma yapıldığında anlamsız pozitif sonuçları azaltmak için kullanılan bir düzeltme yöntemidir. Bağımlı verilerin karşılaştırılmasında Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmıştır. Son olarak, istatistiksel analizlerde p<0.05 anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde IBM SPSS 25.0 programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Sıçanların Vücut Ağırlıkları

Sıçanların deneyin ilk ve son günündeki vücut ağırlıkları Tablo 4.1’de kıyaslanarak sunulmuştur.

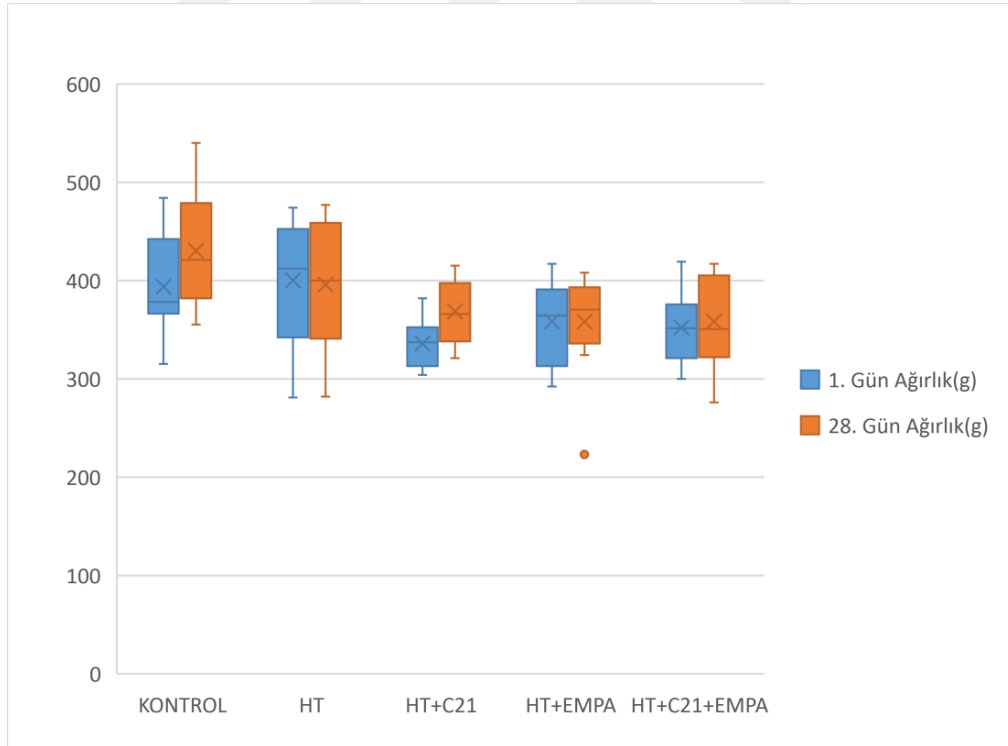
Tablo 4.1. Sıçanların Vücut ağırlıkları

Değişken*	Grup**					p
	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA	
1. gün ağırlık (g)	378 ^a (315-484)	412 ^a (281-474)	337 (304-382)	364 (292-417)	351.5 (300-419)	0.0453
28. gün ağırlık (g)	421 (355-540)	400 (282-477)	366 (321-415)	370.5 (223-408)	350.5 (276-417)	0.07056
p	0.283	0.720	0.047	0.994	0.737	

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : a: HT+C21 grubuna göre farklıdır.

Sıçanların deneyin ilk ve son günündeki vücut ağırlıkları Şekil 4.1’de kıyaslanarak sunulmuştur.



Şekil 4.1. Sıçanların deneyin ilk ve son günündeki vücut ağırlıklarının karşılaştırılması

4.2. Sıçanların Kalp ve Böbrek Ağırlıkları

Sıçanların kalp ve böbrek ağırlıkları Tablo 4.2’de kıyaslanarak sunulmuştur.

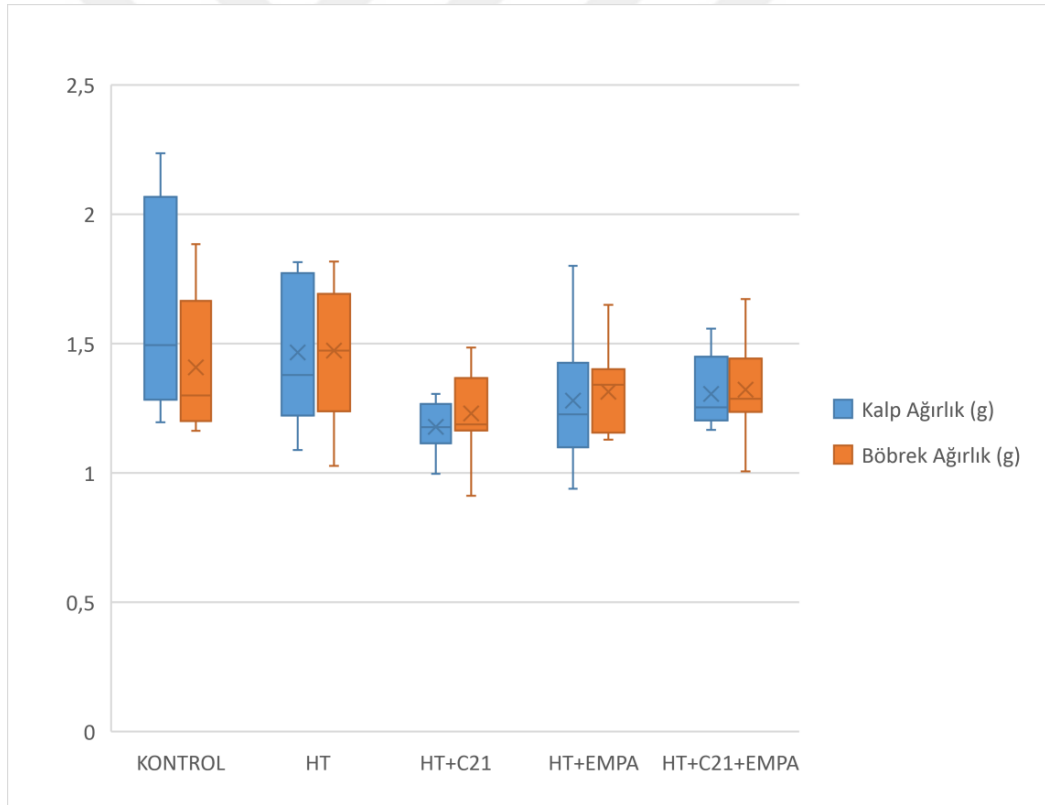
Tablo 4.2. Kalp ve böbrek ağırlıkları

Değişken*	Grup**					p
	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA	
Kalp ağırlık (g)	1.494 ^{ab} (1.196-1.317)	1.378 ^a (1.089-1.815)	1.177 (0.996-1.305)	1.226 (0.939-1.801)	1.253 (1.166-1.558)	0.01193
Böbrek ağırlık (g)	1.3 (1.163-1.884)	1.473 (1.027-1.817)	1.187 (0.912-1.485)	1.341 (1.128-1.649)	1.286 (1.006-1.672)	0.31336

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : a: HT+C21 grubuna göre farklıdır, b: HT+EMPA grubuna göre farklıdır.

Sıçanların kalp ve böbrek ağırlıkları Şekil 4.2’de kıyaslanarak sunulmuştur.



Şekil 4.2. Sıçanların kalp ve böbrek ağırlıklarının karşılaştırılması

4.3. Sıçanların Metabolik Kafeste 24 Saatlik Su Tüketim ve İdrar Çıkış Miktarları

Sıçanların metabolik kafeste 24 saatlik su tüketim ve idrar çıkış miktarları Tablo 4.3'te kıyaslanarak sunulmuştur.

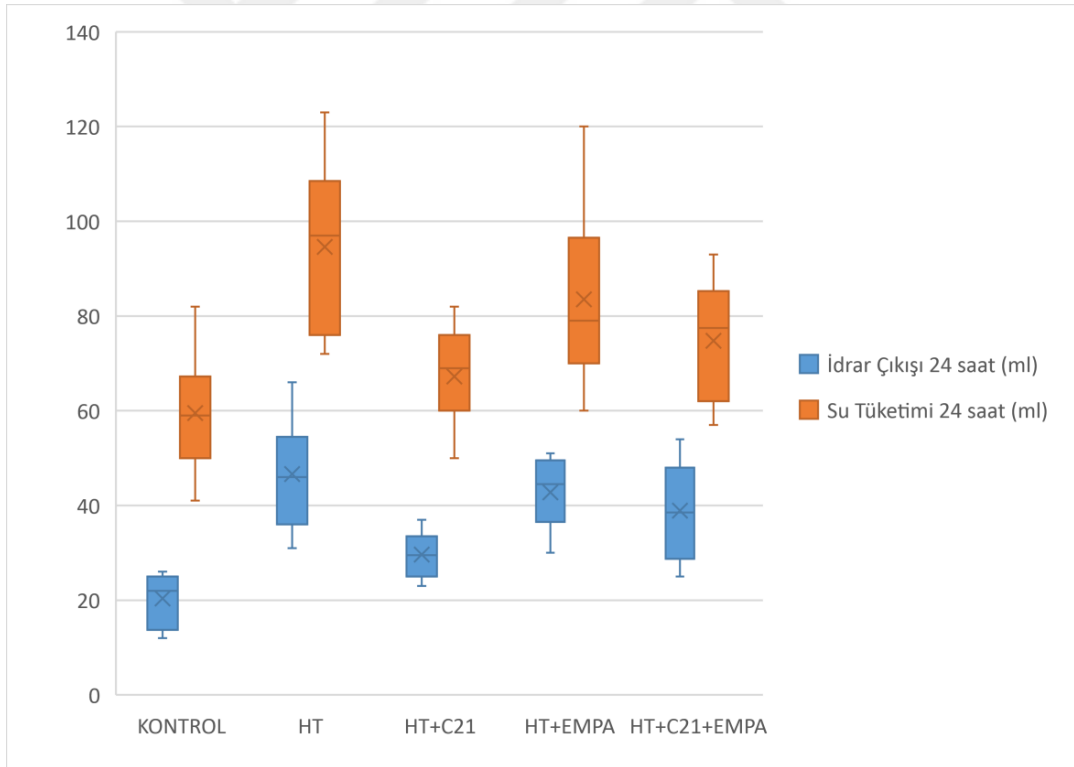
Tablo 4.3. 28. gün 24 saatlik su tüketim ve idrar çıkış miktarları

Değişken*	Grup**					P
	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA	
İdrar çıkışı 24 saat (mL)	22 ^{abcd} (12-26)	46 ^b (31-66)	29.5 ^{cd} (23-37)	44.5 (30-51)	38.5 (25-54)	<0.001
Su tüketimi 24 saat (mL)	59 ^{acd} (41-82)	97 ^{bd} (72-123)	69 ^c (50-82)	79 (60-120)	77.5 (57-93)	0.00116

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : a: HT grubuna göre farklıdır, b: HT+C21 grubuna göre farklıdır, c: HT+EMPA grubuna göre farklıdır, d: HT+C21+EMPA grubuna göre farklıdır

Sıçanların metabolik kafeste 24 saatlik su tüketim ve idrar çıkış miktarları Şekil 4.3'te kıyaslanarak sunulmuştur.



Şekil 4.3. 28. gün 24 saatlik su tüketim ve idrar çıkış miktarları

4.4. Sıçanların İnvazif Hemodinami ve EKG Ölçümleri

Sıçanların kalp hızı, kan basıncı ve EKG değerleri Tablo 4.4'te kıyaslanarak sunulmuştur.

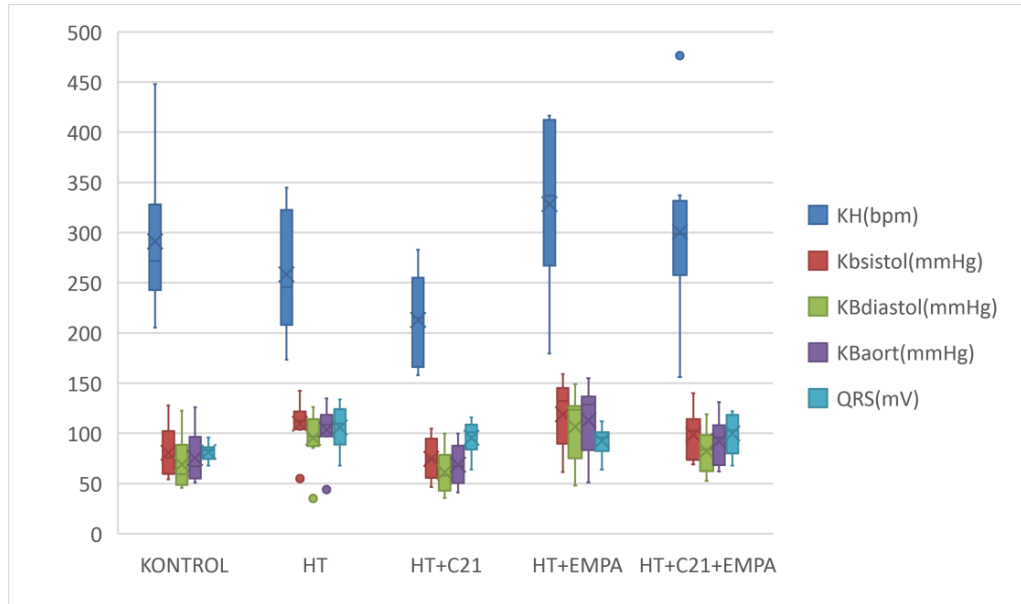
Tablo 4.4. İnvazif hemodinami ve EKG değerleri

Değişken*	Grup**					p
	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA	
KH (atım/dk)	271.635 ^b (20 5.48-447.76)	245.9 ^c (173.41- 344.83)	215.075 ^{cd} (15 7.89-283.02)	336.7 (179.64- 416.67)	298.69 (156.25- 476.19)	0.01464
KB sistol (mmHg)	75.89 ^{ac} (54.1 8-127.7)	112.61 ^b (54.79- 142.37)	73.77 ^{cd} (46.65 -104.57)	132.17 (61.48- 159.15)	102.66 (69.22-140.05)	0.00685
KB diastol (mmHg)	59.34 ^{ac} (45.7 8-122.66)	96.72 ^b (35.01- 126.31)	57.82 ^c (35.69- 99.69)	123.52 (48.21- 149.06)	83.755 (52.78-118.96)	0.00946
KB ortalama (mmHg)	67.39 ^{ac} (50.8 8-125.88)	108.73 ^b (44.05- 134.71)	67.465 ^c (41.2 1-99.96)	128.86 (51.19- 154.75)	95.705 (62.09-131.21)	0.0101
PR (msn)	28 (22-38)	26 (24- 34)	27 (24-40)	26 (18-32)	28 (26-30)	0.47494
QRS (msn)	83 ^{abd} (68-96)	110 (68- 134)	101 (64-116)	96 (64-112)	103 (68-122)	0.04928
QT (msn)	151 (96-174)	158 (10 8-184)	149 (100-184)	137 (102-192)	152 (110-176)	0.35349

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : a: HT grubuna göre farklıdır, b: HT+C21 grubuna göre farklıdır, c: HT+EMPA grubuna göre farklıdır, d: HT+C21+EMPA grubuna göre farklıdır (KH: Kalp Hızı, KB: Kan Basıncı, msn: Milisaniye).

Sıçanların kalp hızı, kan basıncı ve EKG değerleri Şekil 4.4'de kıyaslanarak sunulmuştur.



Şekil 4.4. İnvazif hemodinami ve EKG değerleri

4.5. Biyokimyasal Bulgular

Sıçanlarda kalp dokusu kullanılarak yapılan biyokimyasal analizler Tablo 4.5'te kıyaslanarak sunulmuştur.

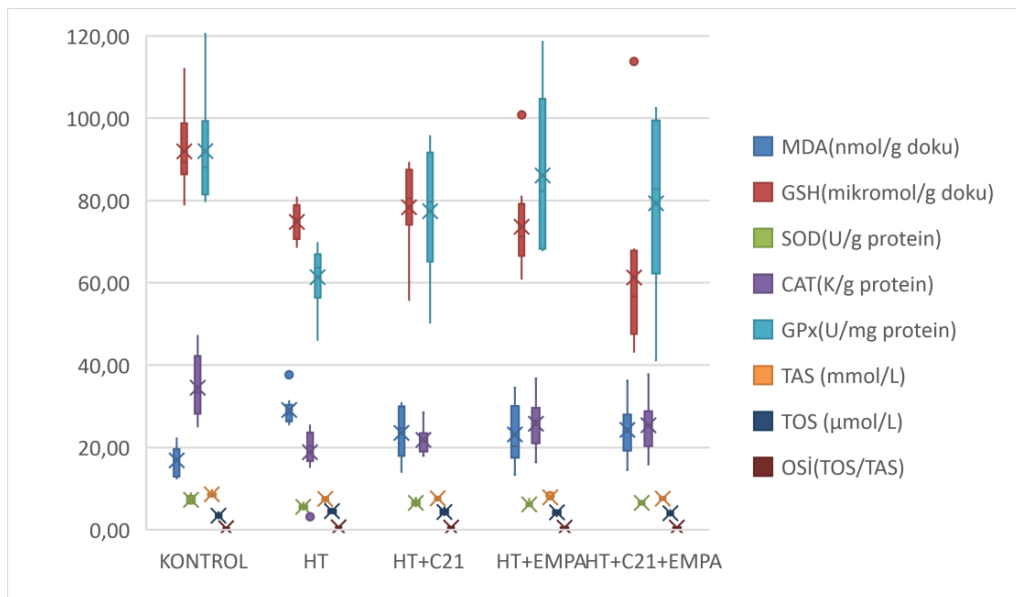
Tablo 4.5. Kalp dokusu biyokimyasal analizleri

Değişken*	Grup**					<i>p</i>
	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA	
MDA (nmol/g doku)	17.336 ^{abcd} (12.474-22.203)	28.231 ^c (25.605-37.679)	24.611 (14.021-30.829)	20.276 (13.365-34.509)	23.806 (14.558-36.241)	0.00617
GSH (μmol/g doku)	89.282 ^{abcd} (79.032-111.979)	75.553 ^d (68.747-80.754)	80.483 ^d (55.8-89.208)	71.261 ^d (60.987-100.818)	56.716 (43.265-113.748)	<0.001
SOD (U/g protein)	6.99 ^{abc} (6.296-8.854)	5.568 ^{bcd} (4.896-6.565)	6.303 (5.692-7.755)	6.019 ^d (5.734-7.503)	6.476 (6.113-7.045)	<0.001
CAT (K/g protein)	33.353 ^{abcd} (25.083-47.104)	20.324 ^{cd} (3.178-25.397)	21.588 (17.998-28.497)	26.591 (16.433-36.762)	25.456 (15.881-37.771)	<0.001
GPx (U/mg protein)	88.068 ^a (79.762-120.582)	63.682 ^{bcd} (46.11-69.697)	79.698 (50.296-95.626)	82.39 (67.886-118.556)	82.782 (41.218-102.495)	0.00349
TAS (mmol/L)	8.511 ^{abcd} (8.047-9.692)	7.744 (6.611-7.983)	7.752 (7.051-8.043)	7.85 (7.684-8.252)	7.675 (6.722-7.996)	<0.001
TOS (μmol/L)	3.43 ^{abc} (2.754-4.3)	4.589 (4.058-5.121)	4.106 (3.575-5.411)	4.396 (3.382-4.783)	4.01 (3.382-4.783)	0.01468
OSİ (AU)	0.397 ^{abcd} (0.332-0.487)	0.598 (0.51-0.745)	0.539 (0.446-0.698)	0.549 (0.432-0.606)	0.529 (0.435-0.635)	<0.001

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

**: a: HT grubuna göre farklıdır, b: HT+C21 grubuna göre farklıdır, c: HT+EMPA grubuna göre farklıdır, d: HT+C21+EMPA grubuna göre farklıdır (MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon, SOD: Süperoksit Dismutaz, CAT: Katalaz, GPx: Glutasyon Peroksidaz, TAS: Toplam Antioksidan Seviye, TOS: Toplam Oksidan Seviye, OSİ: Oksidatif Stres İndeksi).

Sıçanlarda kalp dokusu kullanılarak yapılan biyokimyasal analizler Şekil 4.5’de kıyaslanarak sunulmuştur.



Şekil 4.5. Kalp dokusu biyokimyasal analizleri

Sıçanlarda böbrek dokusu kullanılarak yapılan biyokimyasal analizler Tablo 4.6'da kıyaslanarak sunulmuştur.

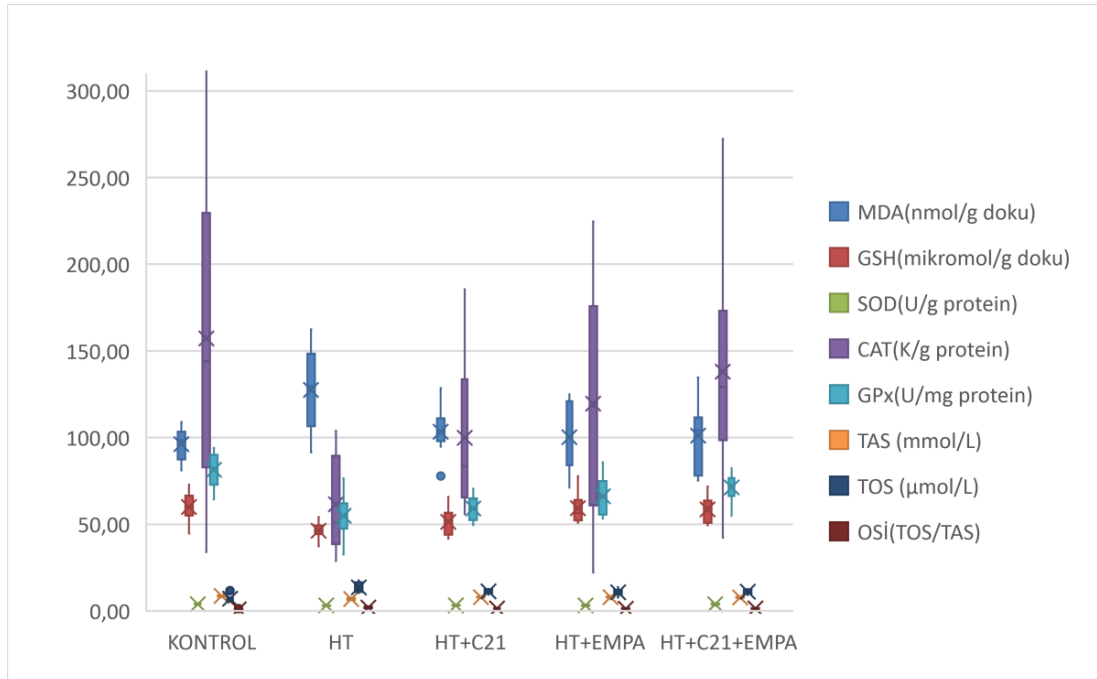
Tablo 4.6. Böbrek dokusu biyokimyasal analizleri

Değişken*	Grup**					P
	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA	
MDA (nmol/g doku)	98.485 ^a (81.041-109.064)	129.554 ^{bcd} (91.517-162.54)	103.615 (77.846-128.516)	100.048 (71.124-124.994)	104.02 (75.308-134.656)	0.03449
GSH (μmol/g doku)	60.344 ^{ab} (44.608-72.858)	46.248 ^{cd} (37.295-54.129)	51.836 ^{cd} (41.73-65.788)	56.528 (50.908-77.697)	59.905 (49.413-71.792)	0.00159
SOD (U/g protein)	3.889 ^{abc} (3.453-4.409)	3.169 ^d (2.966-3.413)	3.213 ^d (3.02-3.685)	3.317 ^d (2.928-3.538)	3.91 (3.035-4.375)	<0.001
CAT (K/g protein)	143.982 ^a (34.019-316.717)	50.954 ^{cd} (28.859-103.882)	83.569 (55.687-185.746)	117.737 (22.229-224.737)	129.198 (42.215-272.34)	0.0217
GPx (U/mg protein)	82.389 ^{abc} (64.3-94.026)	55.471 ^{cd} (32.506-76.485)	59.123 ^d (49.521-70.502)	65.687 (53.339-85.843)	72.365 (54.951-82.437)	<0.001
TAS (mmol/L)	8.669 ^{abcd} (7.846-8.919)	6.534 ^{bcd} (6.184-7.688)	7.921 (7.645-8.141)	7.846 (7.564-8.688)	7.748 (7.462-8.248)	<0.001
TOS (μmol/L)	6.184 ^{abcd} (5.217-11.643)	11.981 ^c (10.435-17.536)	11.232 (9.42-12.754)	10.459 (7.729-13.671)	10.894 (9.082-12.657)	0.00128
OSİ (AU)	0.733 ^{abcd} (0.585-1.402)	1.852 ^{bcd} (1.371-2.703)	1.402 (1.204-1.583)	1.302 (0.989-1.59)	1.385 (1.217-1.658)	<0.001

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : a: HT grubuna göre farklıdır, b: HT+C21 grubuna göre farklıdır, c: HT+EMPA grubuna göre farklıdır, d: HT+C21+EMPA grubuna göre farklıdır (MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon, SOD: Süperoksit Dismutaz, CAT: Katalaz, GPx: Glutasyon Peroksidaz, TAS: Toplam Antioksidan Seviye, TOS: Toplam Oksidan Seviye, OSİ: Oksidatif Stres İndeksi).

Sıçanlarda böbrek dokusu kullanılarak yapılan biyokimyasal analizler Şekil 4.6'da kıyaslanarak sunulmuştur.



Şekil 4.6. Böbrek dokusu biyokimyasal analizleri

Sıçanlarda torasik aort dokusu kullanılarak yapılan biyokimyasal analizler Tablo 4.7’de kıyaslanarak sunulmuştur.

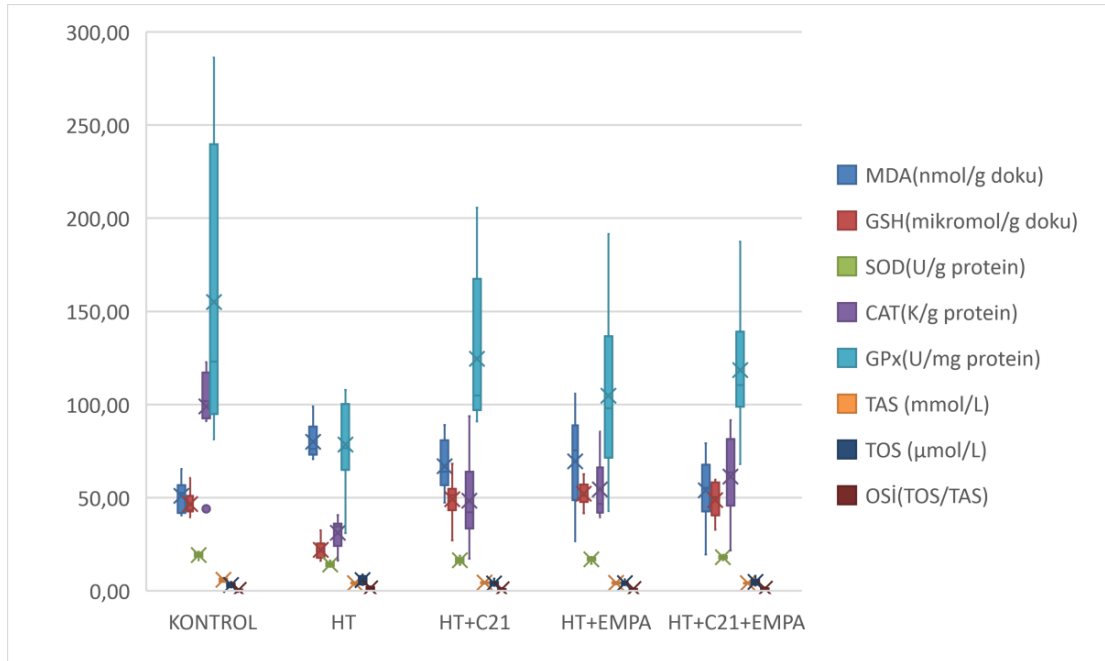
Tablo 4.7. Torasik aort dokusu biyokimyasal analizleri

Değişken*	Grup**					p
	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA	
MDA (nmol/g doku)	52.584 ^{abc} (40.52-65.419)	76.217 ^d (70.674-98.936)	63.891 (47.41-6-89.042)	75.406 (26.672-105.912)	55.23 (19.491-79.098)	0.00416
GSH (μmol/g doku)	43.306 ^a (39.324-60.706)	20.962 ^{bcd} (16.093-32.457)	51.333 (27.07-5-68.136)	50.981 (41.725-62.693)	50.264 (32.874-59.722)	<0.001
SOD (U/g protein)	19.179 ^{abc} (16.507-21.01)	14.091 ^{bcd} (12.838-16.275)	16.511 ^d (13.922-18.942)	17.055 ^d (14.532-18.197)	18.059 (16.509-19.421)	<0.001
CAT (K/g protein)	101.695 ^{abcd} (44.089-122.677)	34.544 ^{bcd} (16.331-40.626)	42.085 ^d (17.183-93.813)	46.816 (39.437-85.544)	63.554 (21.673-91.57)	<0.001
GPx (U/mg protein)	123.1 ^a (81.31-3-286.254)	76.496 ^{bd} (30.976-107.864)	104.833 (90.909-205.662)	98.055 (42.89-191.532)	110.402 (67.997-187.419)	0.02792
TAS (mmol/L)	6.126 ^{abcd} (4.833-6.97)	4.162 (3.192-4.645)	4.513 (3.782-4.769)	4.254 (3.534-4.855)	4.274 (3.838-4.607)	<0.001
TOS (μmol/L)	3.019 ^{ad} (1.787-4.879)	5.411 (3.237-8.696)	3.865 (2.609-6.618)	3.72 (2.995-6.232)	4.444 (2.85-8.116)	0.04465
OSİ (AU)	0.517 ^{abcd} (0.267-0.81)	1.3 (0.707-2.315)	0.886 (0.634-1.472)	0.925 (0.715-1.372)	1.014 (0.619-1.851)	0.00122

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : a: HT grubuna göre farklıdır, b: HT+C21 grubuna göre farklıdır, c: HT+EMPA grubuna göre farklıdır, d: HT+C21+EMPA grubuna göre farklıdır (MDA: Malondialdehit, GSH: Glutatyon, SOD: Süperoksit Dismutaz, CAT: Katalaz, GPx: Glutatyon Peroksidaz, TAS: Toplam Antioksidan Seviye, TOS: Toplam Oksidan Seviye, OSİ: Oksidatif Stres İndeksi).

Sıçanlarda torasik aort dokusu kullanılarak yapılan biyokimyasal analizler Şekil 4.7’de kıyaslanarak sunulmuştur.



Şekil 4.7. Torasik aort dokusu biyokimyasal analizleri

Sıçanlarda yapılan hemogram analizleri Tablo 4.8’de kıyaslanarak sunulmuştur.

Tablo 4.8. Hemogram analizleri

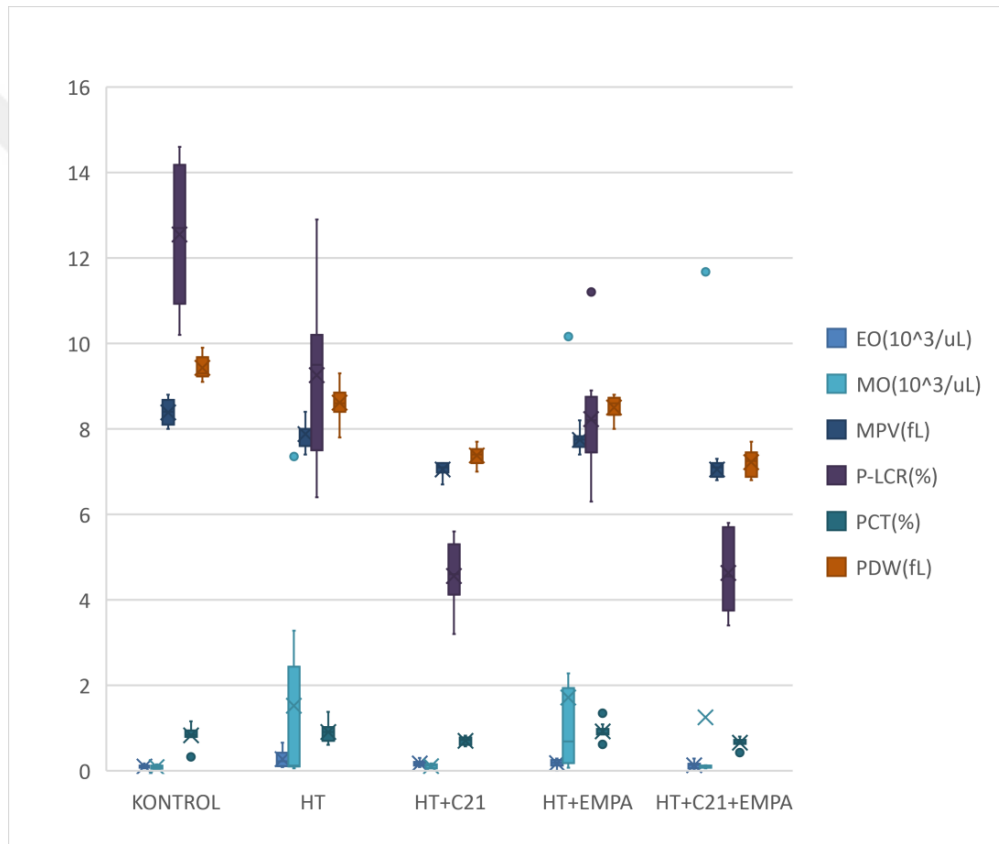
Değişken*	Grup**					p
	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA	
BA (10 ³ /uL)	0.01 (0-0.02)	0.02 (0.01-0.09)	0.015 (0.01-0.03)	0.015 (0.01-0.04)	0.01 (0.01-0.05)	0.18516
BA (%)	0.1 (0-0.2)	0.1 (0.1-0.2)	0.1 (0.1-0.2)	0.1 (0.1-0.2)	0.1 (0.1-0.3)	0.37103
EO (10 ³ /uL)	0.1 ^{abc} (0.06-0.17)	0.22 ^d (0.09-0.66)	0.16 (0.09-0.3)	0.185 (0-0.29)	0.135 (0.01-0.29)	0.0434
EO (%)	0.9 (0.5-4.2)	1.3 (0.2-4.6)	1.3 (0.9-2.9)	1.2 (0-2.5)	1 (0.1-2.1)	0.42825
HCT (%)	56.3 (42.5-62.3)	56.6 (46.1-63.6)	59.35 (53.8-61.7)	58.05 (47.6-60.8)	55.4 (53.6-60.3)	0.09525
HGB (g/dL)	17.4 (13.2-19.6)	17.5 (13.6-19.9)	18.25 (17.2-19.2)	18.55 (14.7-19.2)	17.35 (16.6-18.6)	0.10722
IGG (10 ³ /uL)	0.005 ^{abcd} (0-0.01)	0.05 (0-0.16)	0.02 (0-0.04)	0.03 (0-0.07)	0.03 (0-0.09)	0.00553
IGG (%)	0.05 ^{abcd} (0-0.1)	0.2 (0-0.8)	0.2 (0-0.3)	0.2 (0-0.3)	0.25 (0-0.9)	0.02343
LY (10 ³ /uL)	9.22 (2.28-11.83)	9.8 (4.27-24.81)	8.885 (5.73-12.88)	10.09 (4.74-15.32)	7.92 (4.02-14.43)	0.85843
LY (%)	85.55 ^{abcd} (79.4-89.4)	69 (42.6-80.8)	76.9 (60.8-82.7)	65.45 (31.1-84.8)	73.05 (21.3-84.6)	<0.001
MCH (pg)	18.15 (17.6-18.5)	18.1 (17.5-19.6)	18.05 (17.2-18.9)	18 (17.6-18.6)	18 (17.4-18.7)	0.87778
MCHC (g/dL)	30.95 (30.2-31.5)	30.9 (29.5-31.6)	31 (30.3-32)	31.5 (30.8-32.6)	31.05 (30.6-31.4)	0.05516
MCV (fL)	58.45 (58.1-60.2)	58.8 (56.6-66.4)	58.55 (56.3-60.1)	56.8 (55.1-60.1)	57.85 (56.2-59.9)	0.08433
MO (10 ³ /uL)	0.08 ^{ac} (0.03-0.15)	0.12 (0.06-7.35)	0.12 ^c (0.06-0.17)	0.685 ^d (0.07-10.16)	0.105 (0.06-11.67)	0.01374
MO (%)	0.85 ^{ac} (0.5-1.2)	1.4 ^{bd} (0.8-19.8)	1.05 ^c (0.4-1.5)	2.95 ^d (0.7-66.6)	0.8 (0.6-61.9)	0.0052
MPV (fL)	8.4 ^{abcd} (8-8.8)	8 ^{bd} (7.4-8.4)	7.1 ^c (6.7-7.2)	7.75 ^d (7.4-8.2)	7.1 (6.8-7.3)	<0.001
NE (10 ³ /uL)	1.31 ^{abcd} (0.44-1.48)	2.27 (1.43-20.72)	2.405 (1.94-3.49)	2.96 (0.33-15.32)	2.635 (1.56-4.72)	0.00174
NE (%)	12.45 ^{abcd} (8.9-15.4)	18.5 (13-49)	20.1 (15.5-37)	18.2 (2.1-56.7)	21.05 (13.7-32.3)	0.00252
NRBC (10 ³ /uL)	0.02 (0-0.16)	0.02 (0-0.26)	0.015 (0-0.03)	0.015 (0-0.06)	0.01 (0-0.04)	0.55045
NRBC (%)	0.3 (0-1.3)	0.2 (0-1.2)	0.15 (0-0.2)	0.1 (0-0.6)	0.1 (0-0.3)	0.28704
PLCR (%)	12.7 ^{abcd} (10.2-14.6)	9.5 ^{bd} (6.4-12.9)	4.6 ^c (3.2-5.6)	8.2 ^d (6.3-11.2)	4.55 (3.4-5.8)	<0.001
PCT (%)	0.845 ^{bd} (0.33-1.16)	0.91 ^{bd} (0.61-1.38)	0.72 ^c (0.57-0.82)	0.875 ^d (0.62-1.35)	0.655 (0.43-0.8)	0.00113
PDW (fL)	9.3 ^{abcd} (9.1-9.9)	8.6 ^{bd} (7.8-9.3)	7.4 ^c (7-7.7)	8.6 ^d (8-8.8)	7.25 (6.8-7.7)	<0.001
PLT (10 ³ /uL)	1022 (373-1351)	1149 ^d (763-1644)	1010 ^c (852-1150)	1133 ^d (832-1646)	942 (615-1147)	0.03078
RBC (10 ⁶ /uL)	9.58 (7.23-10.67)	9.79 (7.09-10.77)	10.15 (9.12-10.83)	10.14 (7.92-10.74)	9.56 (9.33-10.24)	0.15531
RDWCV (%)	18.25 (15.3-	19.1 (17	19.35 (18.1-	18.9 (17.8-	18.55 (17.2-20.3)	0.35314

	21.4)	.2-23.5)	20.8)	24.2)		
RDWSD (fL)	27.8 (25.5-35.3)	26.8 (25.9-51.2)	28.1 (25.7-29.5)	27.05 (24.1-44)	27.2 (24.2-28.8)	0.53005
WBC (10³/uL)	10.855 (2.87-13.23)	13.88 (6.19-42.33)	11.685 (9.42-16.18)	15.7 (9.66-27.03)	11.52 (6.79-18.86)	0.26138

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : a: HT grubuna göre farklıdır, b: HT+C21 grubuna göre farklıdır, c: HT+EMPA grubuna göre farklıdır, d: HT+C21+EMPA grubuna göre farklıdır (Bazofil: BA, Eozinofil: EO, Hematokrit: HCT, Hemogloblin: HGB, İmmüoglobülin G: IGG, Lenfosit: LY, Ortalama Eritrosit Hemoglobini: MCH, Ortalama Eritrosit Hemogloblin Konantrasyonu: MCHC, Ortalama Eritrosit Hacmi: MCV, Monosit: MO, Ortalama Trombosit Hacmi: MPV, Nötrofil: NE, Çekirdekli Kırmızı Kan Hücreleri: NRBC, Trombosit Büyük Hücre Oranı: PLCR, Prokalsitonin: PCT, Trombosit Dağılım Genişliği: PDW, Trombosit: PLT, Kırmızı Kan Hücreleri: RBC, Kırmızı Kan Hücre Dağılım Genişliği Varyasyon Katsayısı: RDWCV, Kırmızı Kan Hücrelerinin Boyut Dağılımının Standart Sapması: RDWSD, Beyaz Kan Hücreleri: WBC).

Sıçanlarda yapılan hemogram analizleri Şekil 4.8’de kıyaslanarak sunulmuştur.



Şekil 4.8. Hemogram analizleri

Sıçanlarda kanın biyokimyasal analizleri Tablo 4.9’da kıyaslanarak sunulmuştur.

Tablo 4.9. Kanın biyokimyasal analizleri

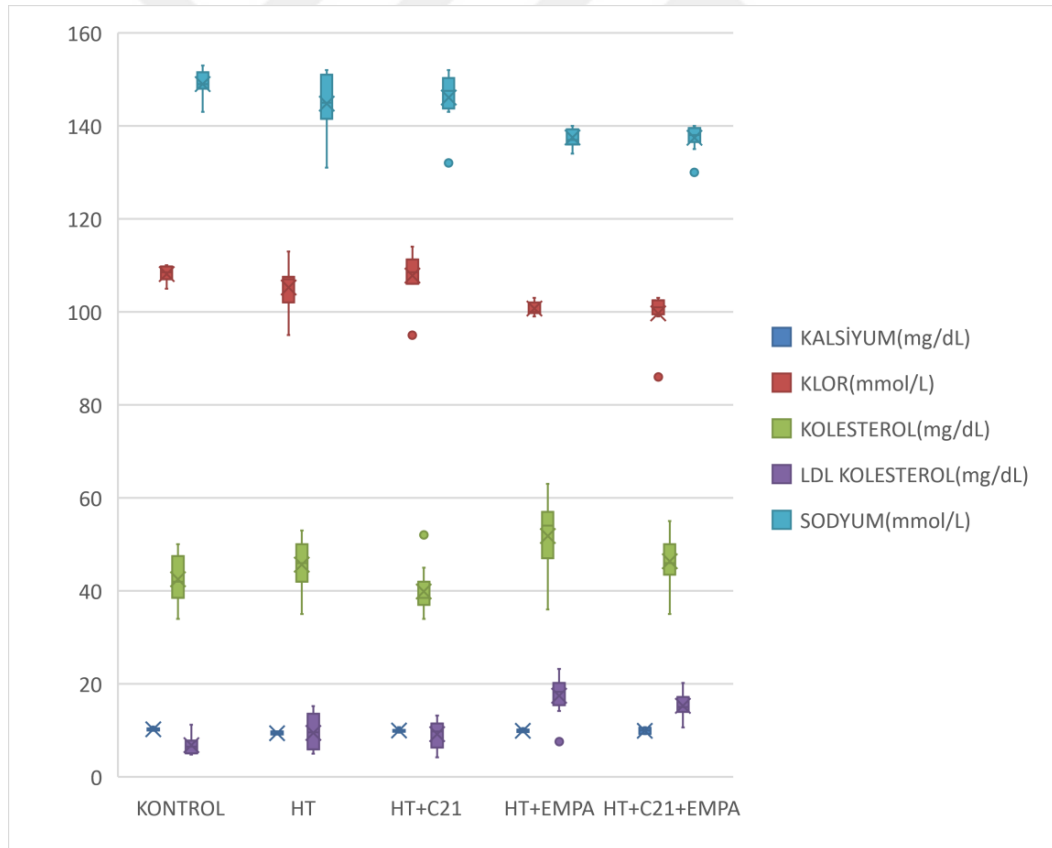
Değişken*	Grup**					P
	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA	
CK (uL)	2156 (723-3806)	1398 (726-3680)	1592 (1029-2224)	1013.5 (288-2865)	1452 (334-1921)	0.0676
HDL Kolesterol (mg/dL)	26 (24-31)	26 (19-27)	21.5 (20-30)	26 (11-29)	23 (11-28)	0.12226
Kalsiyum	10.15 ^{ac} (9.9-	9.3 ^{bcd} (9.1	9.95 (9.5-	9.8 (9.6-10.5)	10 (9.2-10.7)	0.00405

(mg/dL)	10.8)	-9.8)	10.7)			
Klor (mmol/L)	108.5 ^{cd} (105-110)	107 ^{cd} (95-113)	108.5 ^{cd} (95-114)	100 (99-103)	101 (86-103)	<0.001
Kolesterol (mg/dL)	42 ^c (34-50)	46 ^b (35-53)	38.5 ^{cd} (34-52)	54 (36-63)	46 (35-55)	0.00823
LDL Kolesterol (mg/dL)	6.5 ^{cd} (4.8-11.2)	9.6 ^{cd} (5-15.2)	9.8 ^{cd} (4.2-13.2)	18.3 (7.6-23.2)	15 (10.6-20.2)	<0.001
Magnezyum (mg/dL)	2.7 (2.3-3)	2.9 (2.4-3.4)	2.8 (2.4-3.4)	2.85 (2.5-3.4)	3 (2.5-3.4)	0.49285
Potasyum (mmol/L)	5.45 (4.92-7.08)	5.56 (3.93-8.81)	5.67 (4.14-7.78)	5.75 (5.53-10.29)	6.43 (5.13-9.86)	0.33519
Na⁺ (mmol/L)	149 ^{cd} (143-153)	145 ^{cd} (131-152)	147.5 ^{cd} (132-152)	137 (134-140)	138 (130-140)	<0.001
Trigliserid (mg/dL)	50.5 (19-67)	54 (30-87)	39.5 (17-62)	49 (34-80)	38 (30-67)	0.17442
VLDL Kolesterol (mg/dL)	10.1 (3.8-13.4)	10.8 (6-17.4)	7.9 (3.4-12.4)	9.8 (6.8-16)	7.6 (6-13.4)	0.17442

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : a: HT grubuna göre farklıdır, b: HT+C21 grubuna göre farklıdır, c: HT+EMPA grubuna göre farklıdır, d: HT+C21+EMPA grubuna göre farklıdır (Kreatin Kinaz: CK, Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein: HDL, Düşük Yoğunluklu Lipoprotein: LDL, Sodyum: Na⁺, çok düşük yoğunluklu lipoprotein: VLDL).

Sıçanlarda kanın biyokimyasal analizleri Şekil 4.9'da kıyaslanarak sunulmuştur.



Şekil 4.9. Kanın biyokimyasal analizleri

Sıçanlarda idrarın biyokimyasal analizleri Tablo 4.10'da kıyaslanarak sunulmuştur.

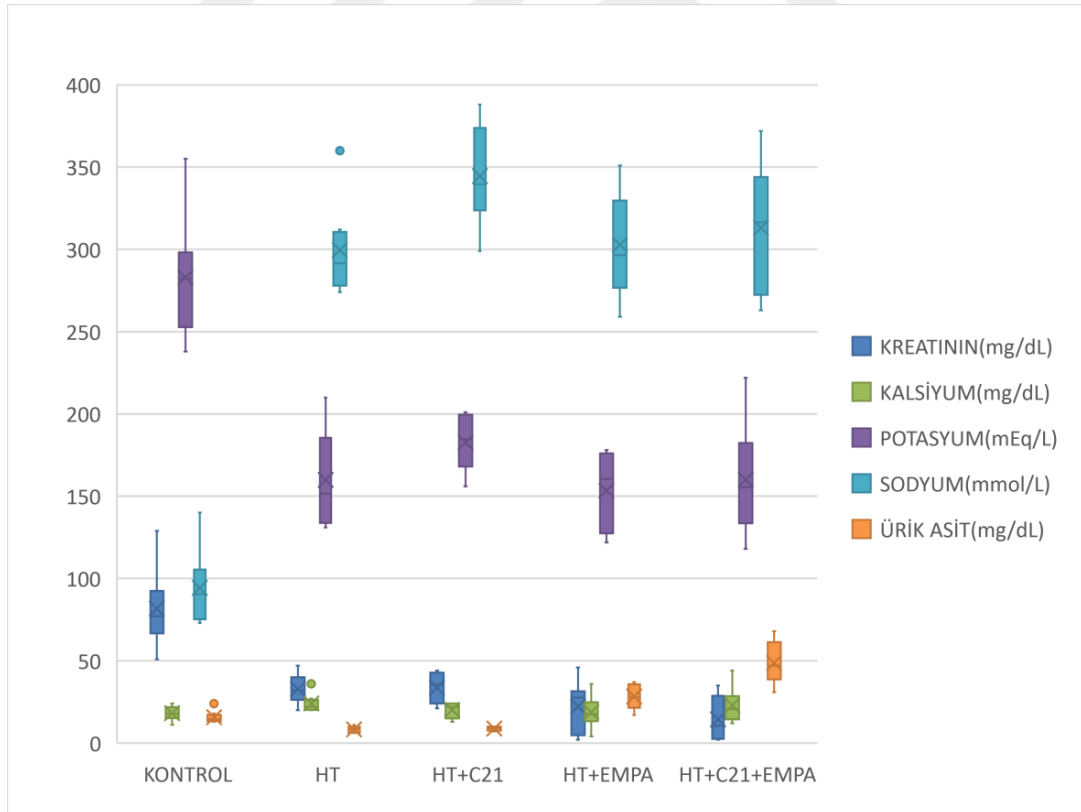
Tablo 4.10. İdrarın biyokimyasal analizleri

Değişken*	Grup**					p
	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA	
Kreatinin (mg/dL)	77 ^{abcd} (51-129)	32 ^d (20-47)	35.5 ^d (21-44)	27.5 (2-46)	10.5 (2-35)	<0.001
Glukoz (mg/dL)	17.5 ^{abcd} (1-43)	4.5 ^{cd} (1-6)	5 ^{cd} (2-5)	1233.5 ^d (498-1736)	212.5 (3-1125)	<0.001
Kalsiyum (mg/dL)	18 (11-24)	22 (20-36)	22 (13-24)	17.5 (4-36)	20.5 (12-44)	0.3979
Potasyum (meq/L)	282.5 ^{abcd} (23-8-355)	151.5 (13-1-210)	184.5 ^c (156-201)	160.5 (122-178)	155.5 (118-222)	<0.001
Na ⁺ (mmol/L)	90.5 ^{abcd} (73-140)	291.5 ^b (2-74-360)	339.5 ^{cd} (299-388)	296.5 (259-351)	316.5 (263-372)	<0.001
Ürik Asit (mg/dL)	14.5 ^{abcd} (13-24)	8.5 ^{cd} (6-11)	9 ^{cd} (7-10)	28 ^d (17-37)	47 (31-68)	<0.001

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : a: HT grubuna göre farklıdır, b: HT+C21 grubuna göre farklıdır, c: HT+EMPA grubuna göre farklıdır, d: HT+C21+EMPA grubuna göre farklıdır (Sodyum: Na⁺)

Sıçanlarda idrarın biyokimyasal analizleri Şekil 4.10'da kıyaslanarak sunulmuştur.



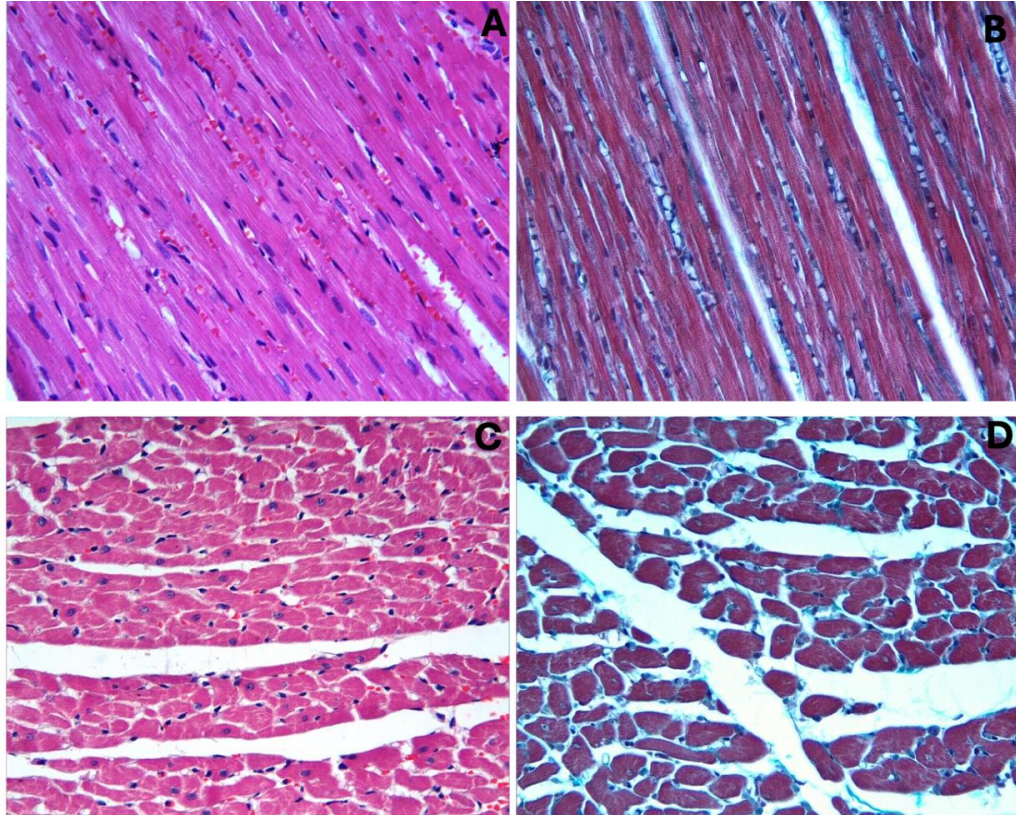
Şekil 4.10. İdrarın biyokimyasal analizleri

4.6. Histopatolojik Bulgular

4.6.1. Kalp

Kontrol Grubu;

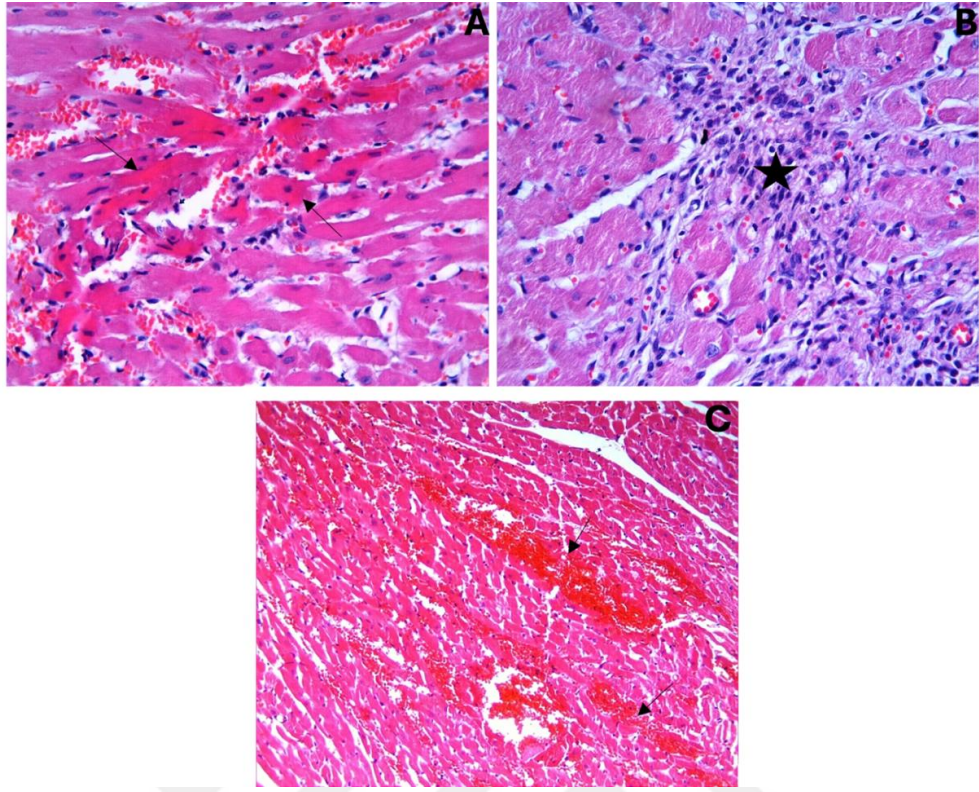
HE ve MT boyama metodları uygulanmış kesitlerde kalp dokusunun longitudinal (Şekil 4.11 A, B) ve transvers kesitlerinin (Şekil 4.11 C, D) normal histolojik yapıda olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.11. K grubunda kalp dokusunun longitudinal (A, B) ve transvers kesitleri (C, D) normal histolojik yapıda görülmekte A, C HE X400; B, D MT X400

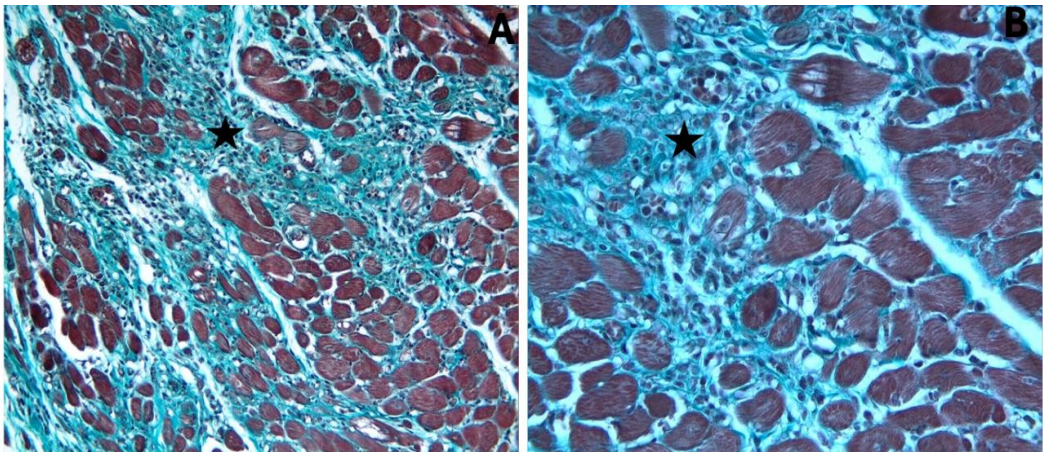
Hipertansiyon Grubu;

HE boyama yöntemi uygulanmış kalp kesitlerinde eozinofilik sitoplazmalı, koyu nükleuslu dejenere kardiyomiyositler (Şekil 4.12 A) gözlemlendi. Ayrıca inflamatuvar hücre infiltrasyonu (Şekil 4.12 B) ve hemoraji (Şekil 4.12 C) tespit edildi.



Şekil 4.12. HT grubunda eozinofilik sitoplazmalı, koyu nükleuslu dejenere kardiyomiyositler (oklar) (A), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (yıldız) (B), hemoraji (oklar) (C) görülmekte HE A, B, X400; C, X200

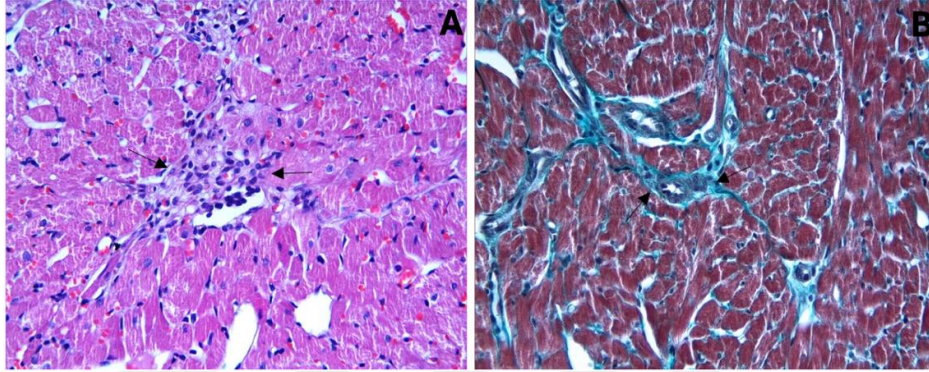
MT boyama yöntemi uygulanmış kalp kesitlerinde kolajen miktarında artış gözlemlendi (Şekil 4.13 A, B). K grubu ile karşılaştırıldığında bu kesitlerde histopatolojik hasar skorunun istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görüldü ($p < 0.0001$).



Şekil 4.13. HT grubunda kolajen miktarında artış (yıldız) (A, B) görülmekte MT A, X200; B, X400

Hipertansiyon + Compound 21 Grubu;

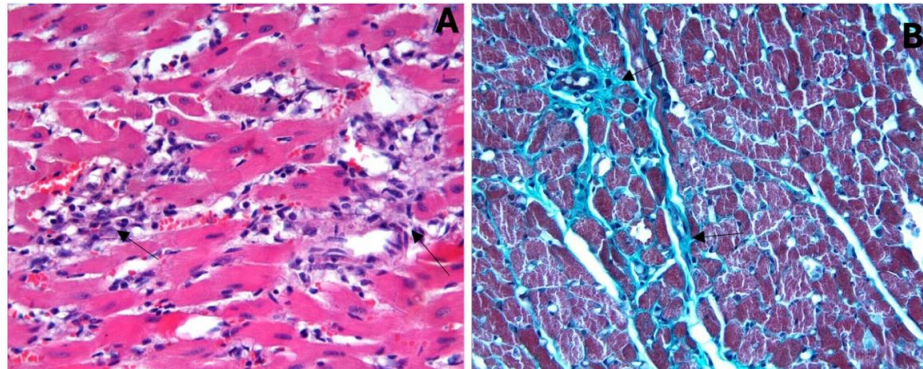
HE boyama yöntemi uygulanmış kalp kesitlerinde HT grubu ile karşılaştırıldığında doku hasarının azaldığı ancak bazı kısımlarda hücre infiltrasyonu olan bölgelerin var olduğu tespit edildi (Şekil 4.14 A). MT boyama metodu uygulanmış kesitlerde HT grubu ile karşılaştırıldığında kolajen miktarındaki artışta azalma gözlemlendi (Şekil 4.14 B). HT grubu ile karşılaştırıldığında HT+C21 grubunda histopatolojik hasar skorunun istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p<0.0001$).



Şekil 4.14. HT+C21 grubunda inflamatuvar hücre infiltrasyonu (oklar) (A) görülmekte HE X200, hafif kolajen miktarında artış (oklar) (B) görülmekte MT X200

Hipertansiyon + Empagliflozin Grubu;

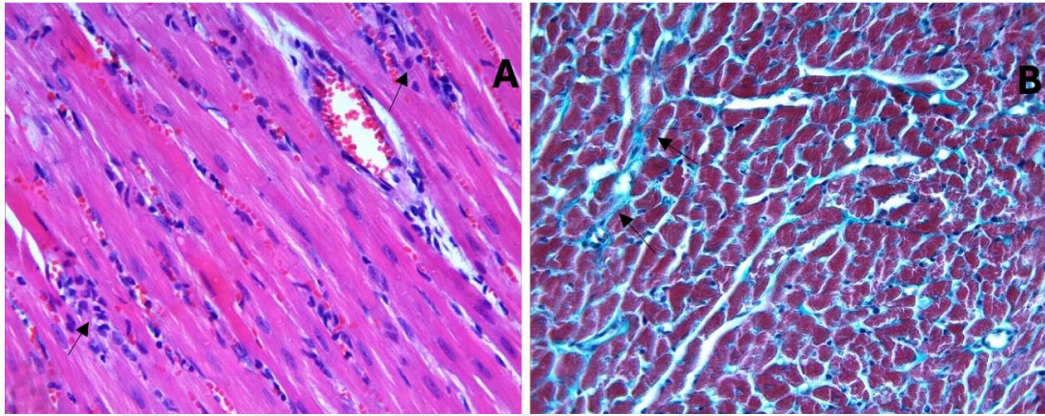
HE boyama yöntemi uygulanmış kalp kesitlerinde HT grubu ile karşılaştırıldığında doku hasarının azaldığı fakat HT+C21 grubuna benzer şekilde bazı kısımlarda hücre infiltrasyonu içeren bölgelerin var olduğu tespit edildi (Şekil 4.15 A). MT boyama metodu uygulanmış kesitlerde ve HT grubu ile karşılaştırıldığında kolajen miktarının azaldığı, HT+C21 grubu ile benzer olduğu gözlemlendi (Şekil 4.15 B).



Şekil 4.15. HT+EMPA grubunda inflamatuvar hücre infiltrasyonu (oklar) (A) görülmekte HE X200, hafif kolajen miktarında artış (oklar) (B) görülmekte MT X200

Hipertansiyon + Compound 21 + Empagliflozin Grubu;

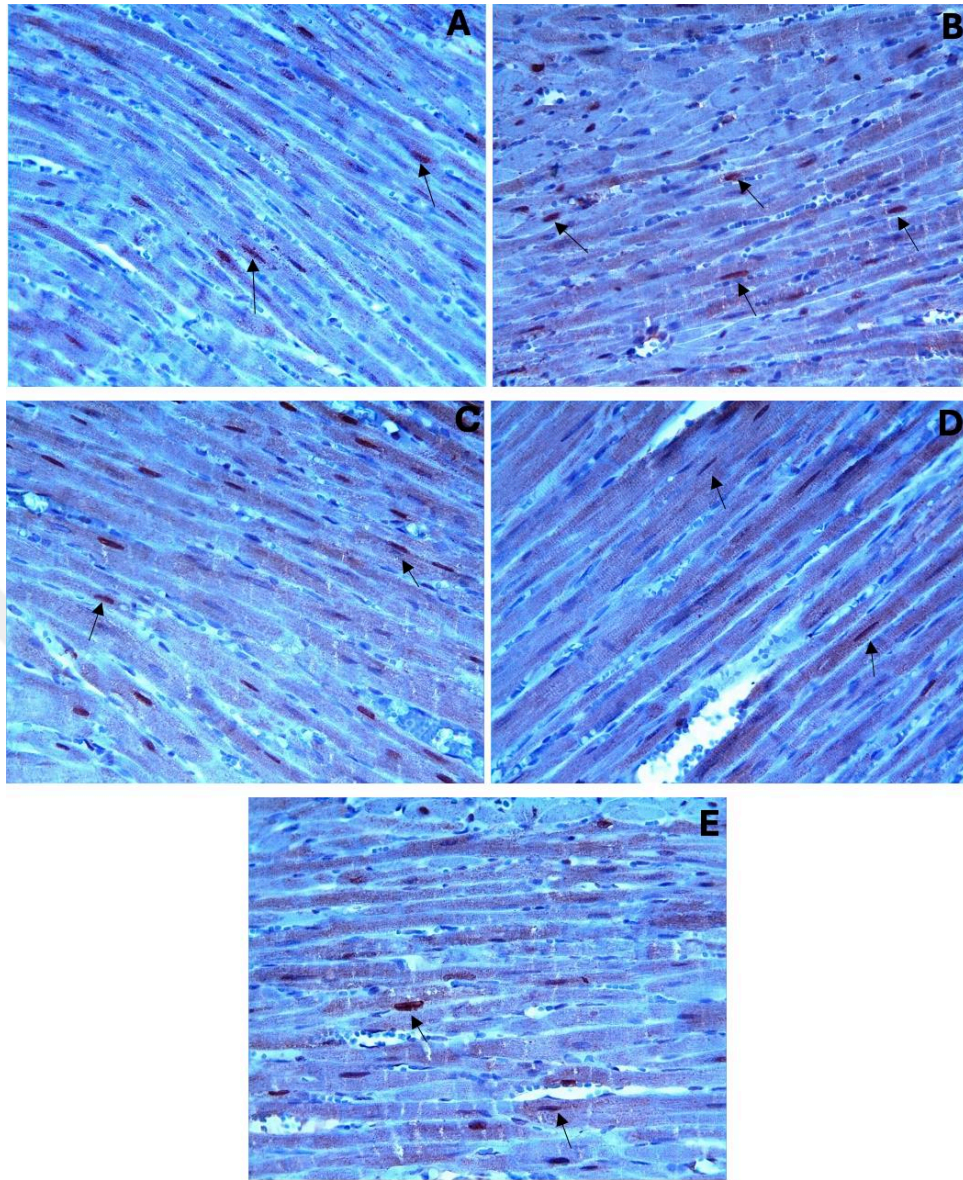
HE boyama yöntemi uygulanmış kalp kesitlerinde histopatolojik hasar skoru HT grubu ile karşılaştırıldığında doku hasarının azaldığı fakat hücre infiltrasyonunun bazı hala görüldüğü tespit edildi (Şekil 4.16 A). HT+C21 ve HT+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunmadığı gözlemlendi. HT+C21+EMPA grubunun MT boyama metodu uygulanmış kesitleri HT grubu ile karşılaştırıldığında kolajen miktarındaki artışta azalma gözlenirken, HT+C21 ve HT+EMPA grupları ile benzer olduğu izlendi (Şekil 4.16 B).



Şekil 4.16. HT+C21+EMPA grubunda inflamatuvar hücre infiltrasyonu (oklar) (A) görülmekte HE X200, hafif kolajen miktarında artış (oklar) (B) görülmekte MT X200

Kalbin İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi;

K grubunda Anti-AT2 boyama yöntemi uygulanmış kesitlerde az sayıda AT2 (+) kardiyomiyositler gözlemlendi (Şekil 4.17 A). HT grubu K grubu ile karşılaştırıldığında AT2 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı izlendi ($p<0.0001$) (Şekil 4.17 B). HT grubu; HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarıyla karşılaştırıldığında AT2 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi (Şekil 4.17 C, D, E).



Şekil 4.17. K grubu (A) HT grubu (B), HT+C21 grubu (C), HT+EMPA grubu (D), HT+C21+EMPA grubu (E) AT2 (+) kardiyomiyositler görülmekte (oklar) X200

Tablo 4.11. Kalpteki histopatolojik hasar skoru (ortanca (min-maks))

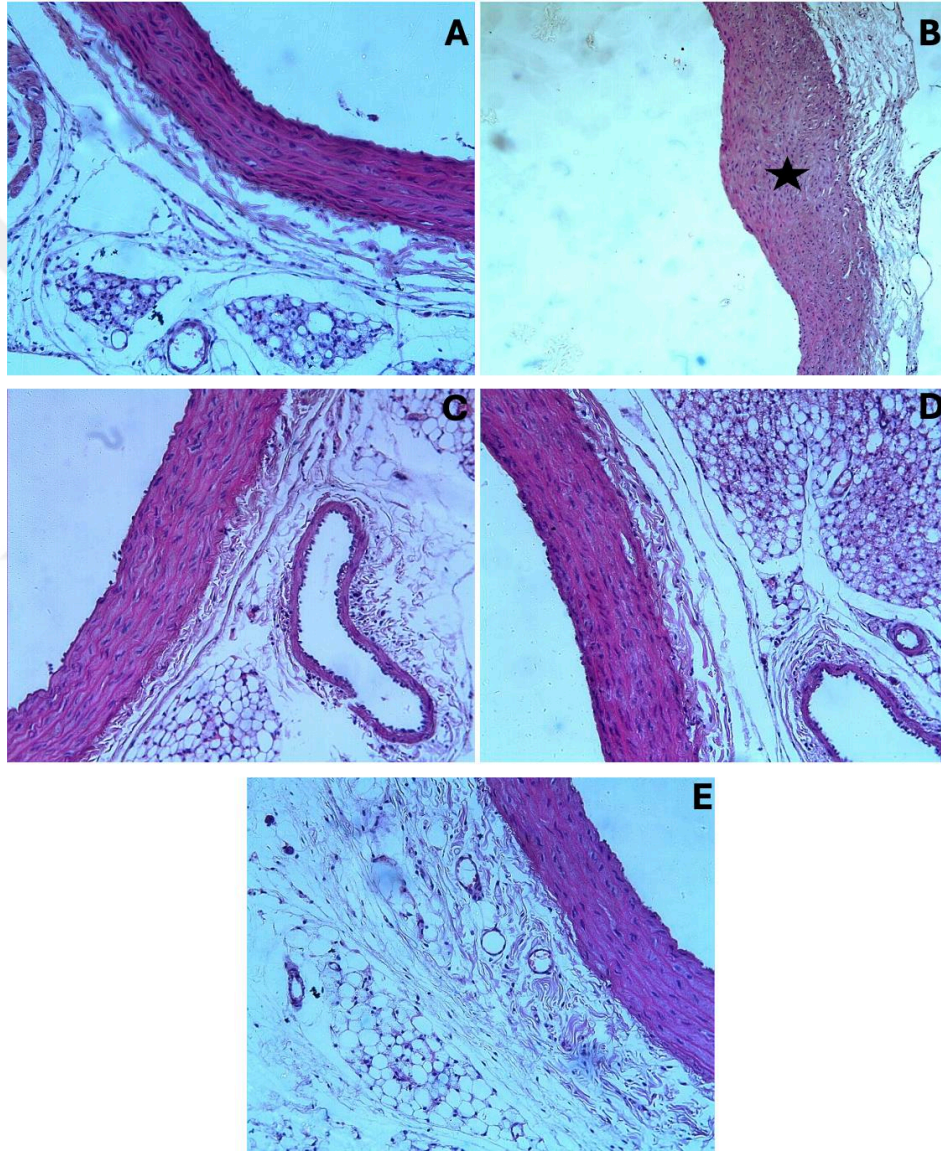
Parametreler	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA
Dejenere kardiyomiyosit	0(0-0)	1(0-3) ^a	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b
Hemoraji	0(0-0)	1(0-2) ^a	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b
İnfiltrasyon	0(0-0)	1(0-3) ^a	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b
Kolajen	0(0-0)	1(0-2) ^a	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b
AT2 yoğunluğu	0(0-1)	1(0-2) ^a	1(0-2) ^a	1(0-1) ^a	1(0-1) ^a

^aK ile istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.0001$)

^bHT ile istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.0001$)

4.6.2. Torasik Aort

HE boyama yöntemi uygulanmış torasik aort kesitleri histopatolojik değişim açısından incelendi. K grubunda torasik aort kesitlerinin normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi. HT grubunda bazı kısımlarda dilatasyon ve elastik lamellerde düzensizlik izlendi. HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarının K gruplarına benzer olduğu gözlemlendi (Şekil 4.18)

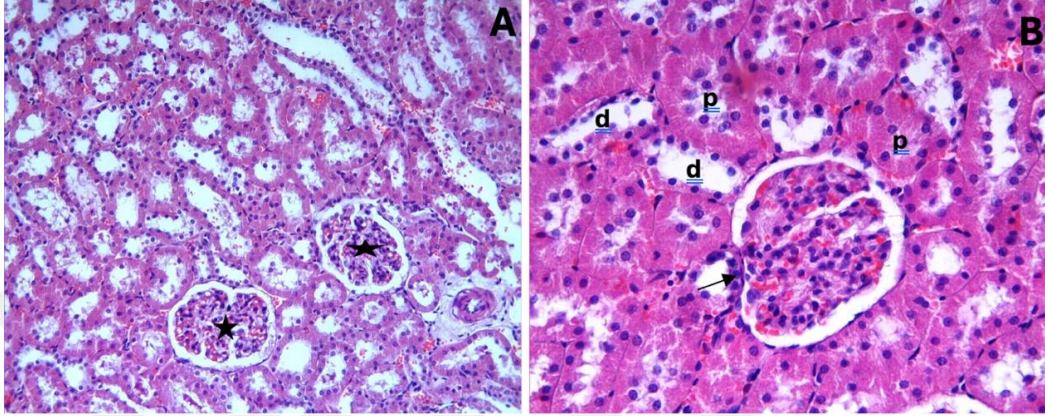


Şekil 4.18. K grubunda normal histolojik görünüm (A), HT grubunda elastik lamellerde düzensizlik ve dilatasyon görülmekte (yıldız), HT+C21 (C), HT+EMPA (D), HT+C21+EMPA (E) gruplarında normal histolojik yapıda gözlenmekte HE X400

4.6.3. Böbrek

Kontrol grubu;

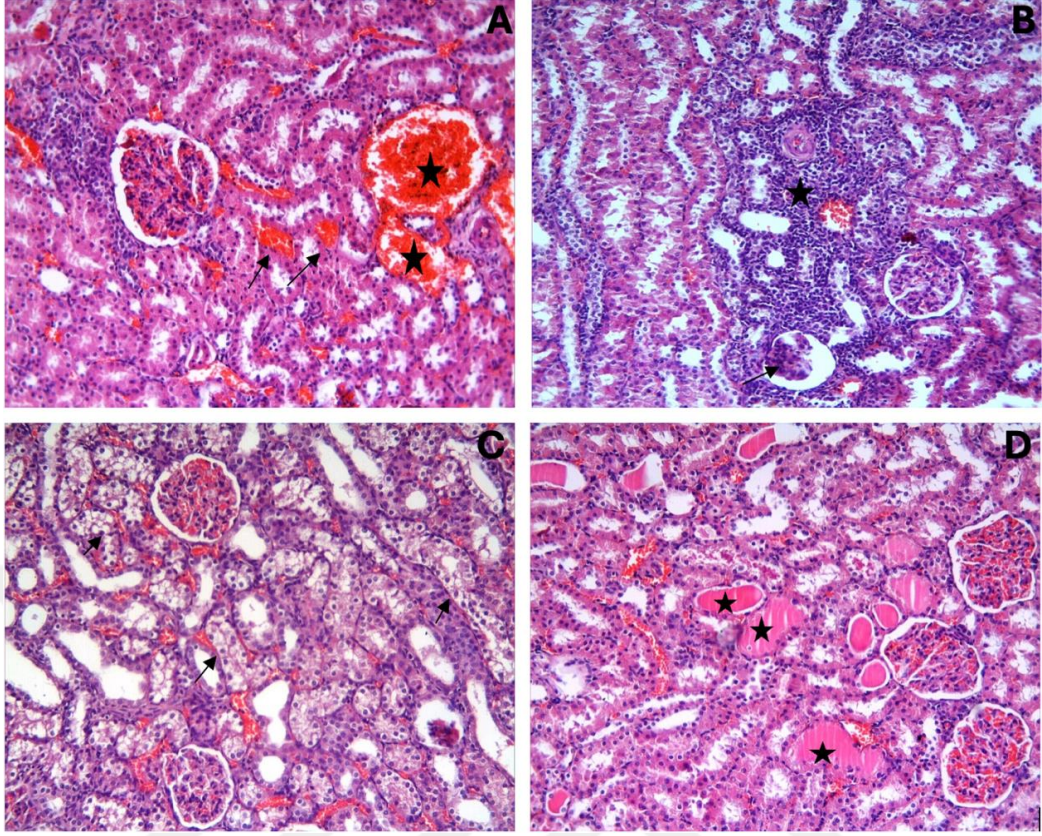
HE boyama yöntemi uygulanmış böbrek kesitlerinde kortekste bulunan glomerül ve tübül yapıları normal histolojik yapıda izlendi (Şekil 4.19 A, B).



Şekil 4.19. K grubunda glomerül (yıldız) (A) makula densa (ok), proksimal (p) ve distal (d) tübül yapıları normal olarak görülmekte (B) HE A, X200; B, X400

Hipertansiyon Grubu;

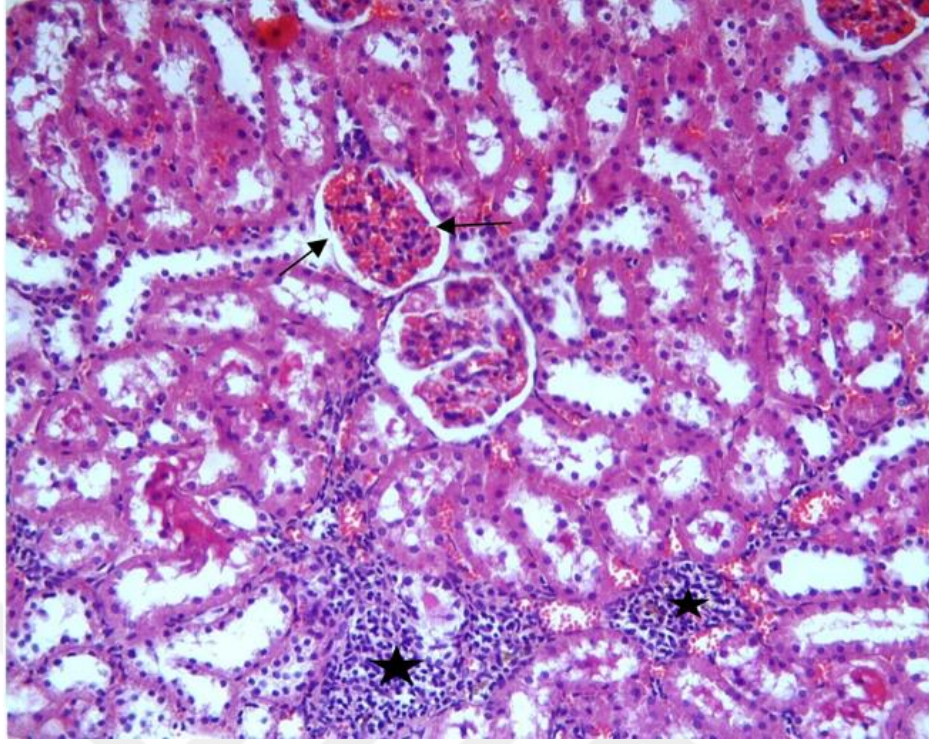
HE boyama yöntemi uygulanmış böbrek kesitlerinde, kortekste intertübüler alanda hemoraji ve konjesyon (Şekil 4.20 A), infiltrasyon alanları ve bazı glomerüllerde kollaps (Şekil 4.20 B) ve tübül hücrelerinde dejenerasyon (Şekil 4.20 C) izlendi (Şekil 4). Ayrıca bazı alanlarda intertübüler aralıklarda eosinofilik hyalin cast birikimi gözlemlendi (Şekil 4.20 D). K grubu ile karşılaştırıldığında HT grubunda histopatolojik hasarın istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edildi ($p<0.001$) (Tablo 4.12).



Şekil 4.20. HT grubunda intertübüler konjesyon (yıldız) ve hemoraji (oklar) (A), glomerüler kollaps (ok) ve infiltrasyon alanları (yıldız) (B), tübül hücrelerinde dejenerasyon (oklar) (C) ve intertübüler aralıklarda eosinofilik hyalin cast birikimi (yıldız) (D) görülmekte HE X200

Hipertansiyon + Compound 21 Grubu;

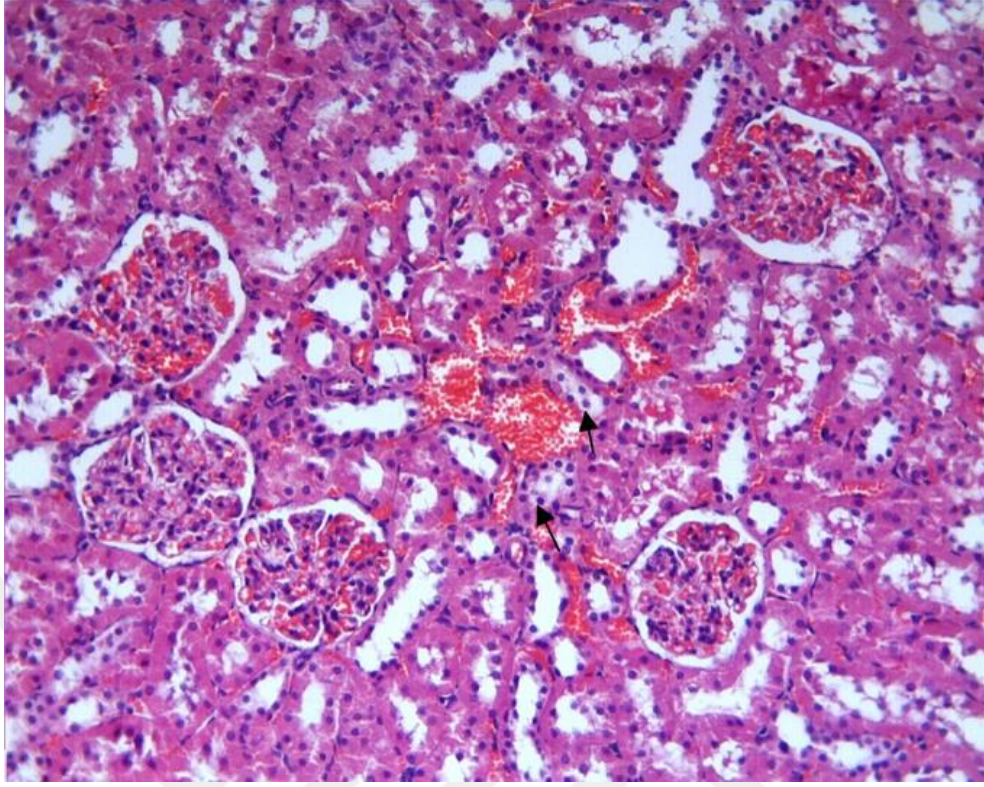
HE boyama yöntemi uygulanmış böbrek kesitlerinde HT grubu ile karşılaştırıldığında doku hasarının azaldığı fakat bazı bölgelerde glomerüler kollaps ve lokal hücre infiltrasyonu içeren alanların var olduğu tespit edildi (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. HT+ C21 grubunda glomerüler kollaps (oklar) ve inflamatuvar inflamasyon alanları görülmekte (yıldız) HE X200

Hipertansiyon + Empagliflozin Grubu;

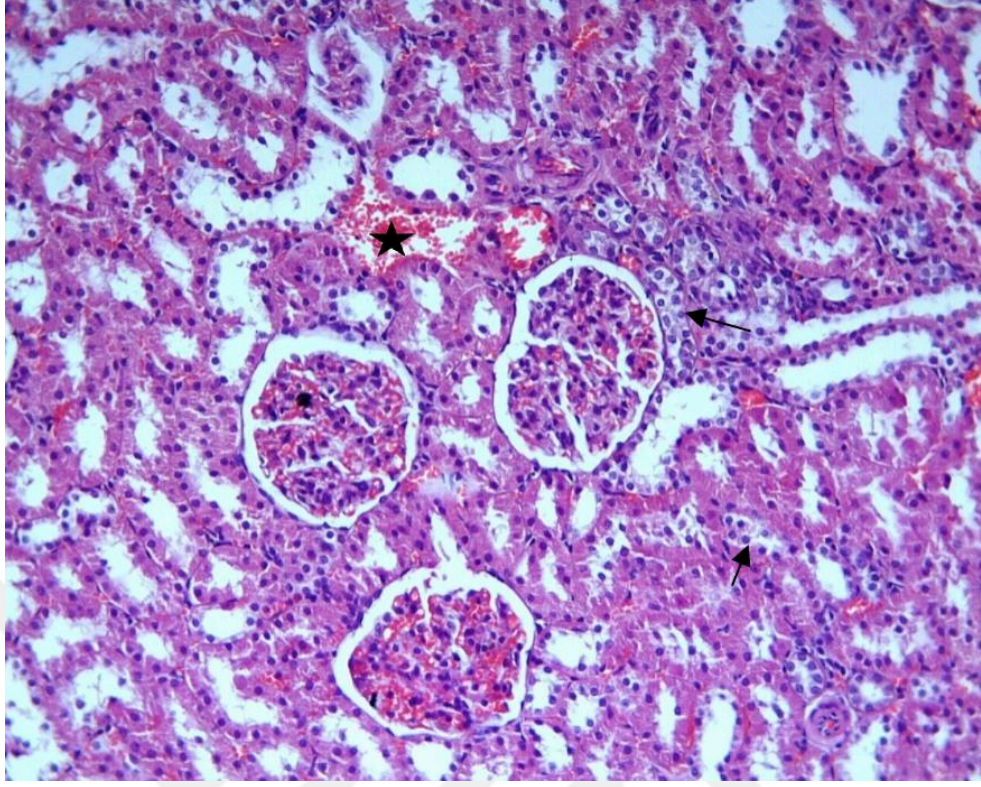
HE boyama yöntemi uygulanmış böbrek kesitlerinde doku histolojik olarak normal gözükmesine rağmen bazı kısımlarda tübül hücrelerinde hasar ve küçük hemorajik alanlar görüldü (Şekil 4.22). HT+EMPA grubu HT grubunda ile karşılaştırıldığında histopatolojik değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlenirken ($p<0.001$), HT+C21 grubuyla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı gözlemlendi ($p>0.05$).



Şekil 4.22. HT+EMPA grubunda küçük hemorajik alanlar (yıldız) ve tübül hücrelerinde dejenerasyon (oklar) görülmekte HE X200

Hipertansiyon + Compound 21 + Empagliflozin Grubu;

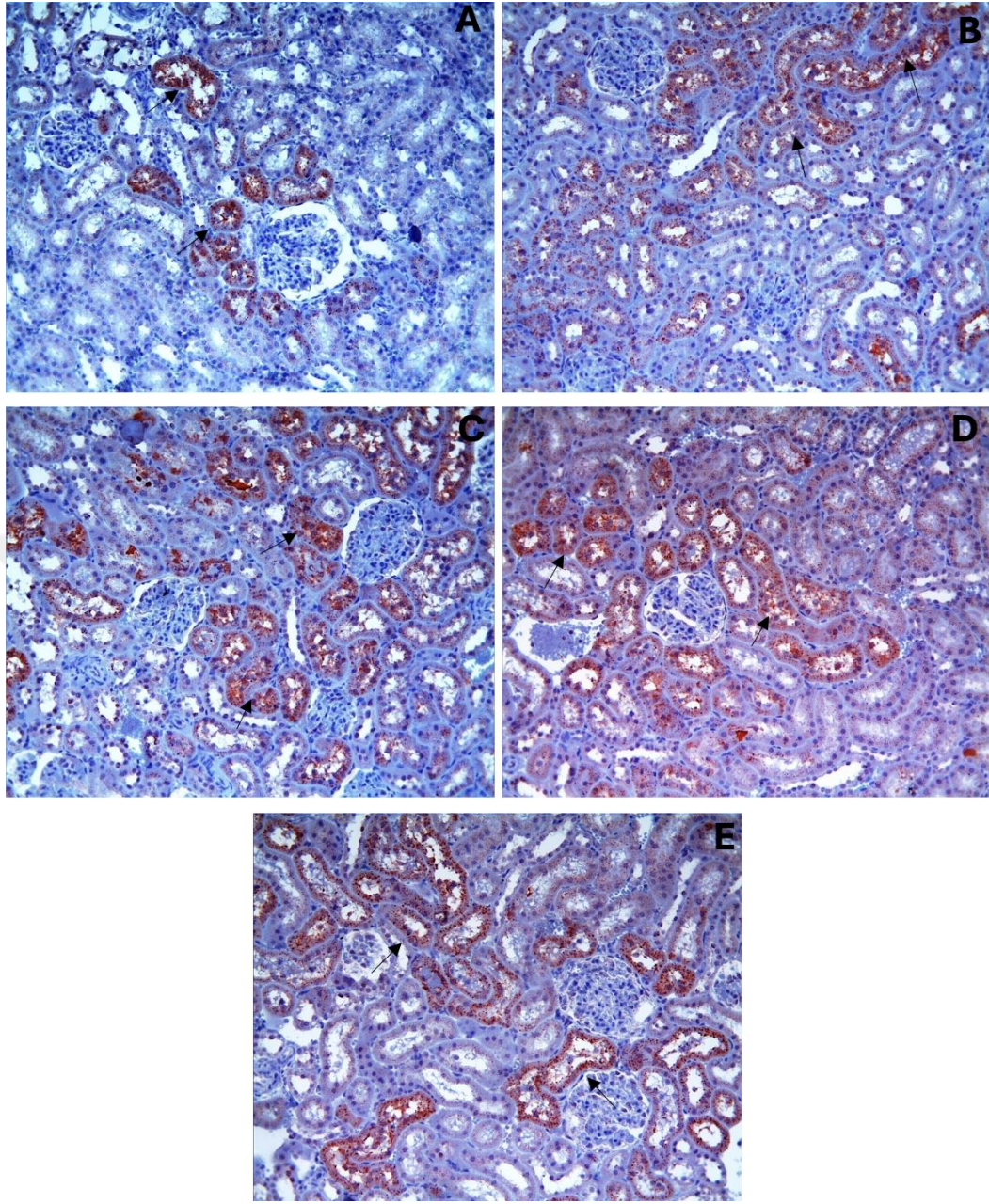
HE boyama yöntemi uygulanmış böbrek kesitlerinde doku histolojik olarak normal gözükmese de bazı kısımlarda tübül hücrelerinde hasar ve küçük hemorajik alanlar görüldü (Şekil 4.23). HT+C21+EMPA grubu HT grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlenirken ($p < 0.001$), HT+C21 ve HT+EMPA gruplarıyla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı gözlemlendi. ($p > 0.05$).



Şekil 4.23. HT+C21+EMPA grubunda küçük hemorajik alanlar (yıldız) ve tübül hücrelerinde dejenerasyon (oklar) görülmekte HE X200

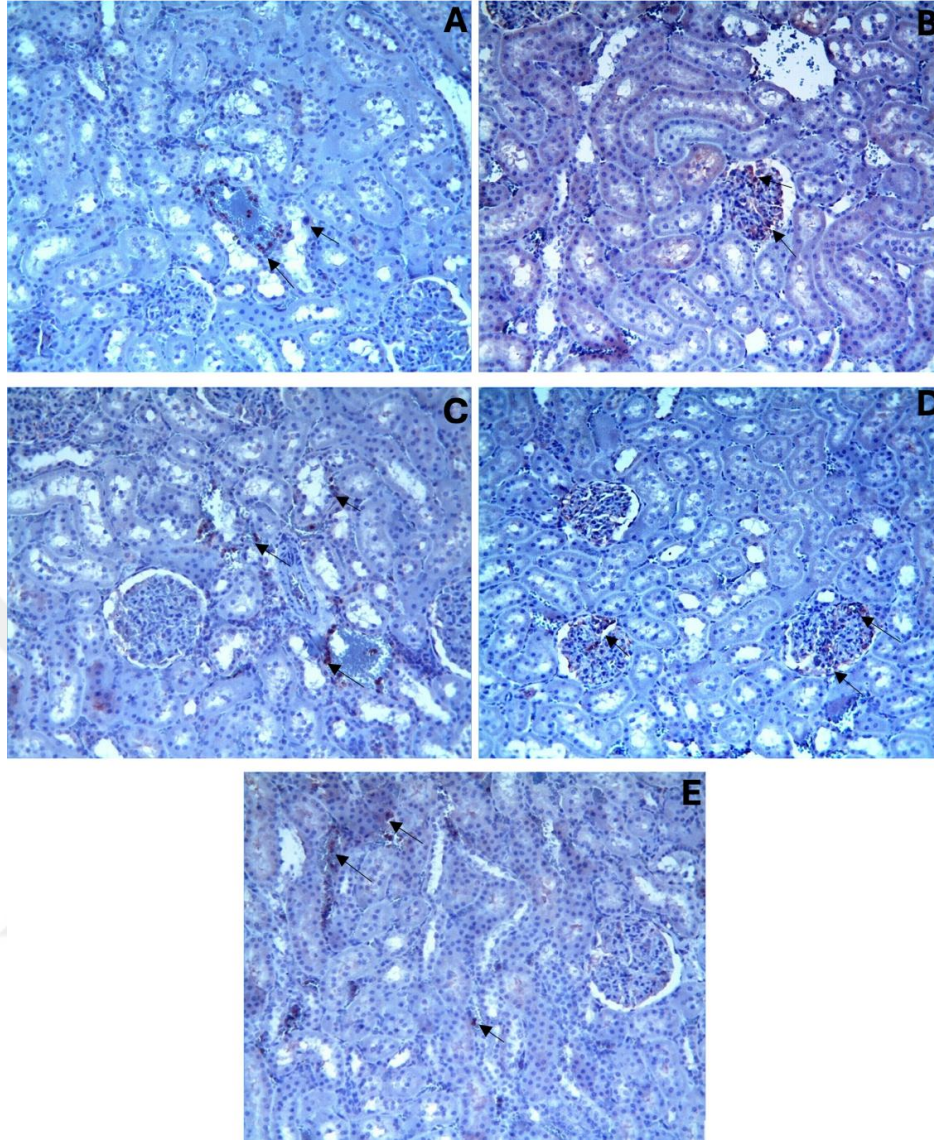
Böbreğin İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi;

K grubunda AT2 boyama yöntemi uygulanmış böbrek kesitlerinde az sayıda AT2 (+) tübüllere rastlandı (Şekil 4.24 A). HT grubunda K grubu ile karşılaştırıldığında AT2 (+) tübül yoğunluğunun istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ($p<0.0001$) (Şekil 4.24 B). HT grubu; HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarıyla karşılaştırıldığında AT2 (+) tübül yoğunluğunun istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi (Şekil 4.24 C, D, E).



Şekil 4.24. K (A), HT (B), HT+C21 (C), HT+EMPA (D) ve HT+C21+EMPA (E) gruplarında AT2 (+) boyanan tübüller görülmekte (oklar) X200

K grubunda Anti-SGLT2 boyama yöntemi uygulanmış böbrek kesitlerinde az sayıda SGLT2 (+) hücreye rastlandı (Şekil 4.25 A). HT grubunda SGLT2 (+) hücre yoğunluğunun K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ($p < 0.0001$) (Şekil 4.25 B). HT grubunda SGLT2 (+) hücre yoğunluğunun HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarıyla karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi (Şekil 4.25 C, D, E).



Şekil 4.25. K (A), HT (B), HT+C21 (C), HT+EMPA (D) ve HT+C21+EMPA (E) gruplarında SGLT2 (+) boyanan hücreler (oklar) görülmekte X200

Tablo 4.12. Böbrekteki histopatolojik hasar skoru (ortanca (min-maks))

Parametreler	K	HT	HT+C21	HT+EMPA	HT+C21+EMPA
Hemoraji	0(0-0)	1(0-3) ^a	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b
İnfiltrasyon	0(0-0)	1(0-3) ^a	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b
Glomerüler kollaps	0(0-0)	1(0-3) ^a	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b
Tübül hücre dejenerasyonu	0(0-0)	1(0-2) ^a	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b	0(0-2) ^b
Hyalin cast birikimi	0(0-0)	1(0-3) ^a	0(0-2) ^b	0(0-1) ^b	0(0-1) ^b
AT2 yoğunluğu	0(0-1)	1(0-2) ^a	1(0-2) ^a	1(0-2) ^a	1(0-2) ^a
SGLT2 yoğunluğu	0(0-1)	1(0-2) ^a	1(0-2) ^a	1(0-2) ^a	1(0-2) ^a

^aK ile istatistiksel olarak anlamlı fark (p<0.0001)

^bHT ile istatistiksel olarak anlamlı fark (p<0.0001)

5. TARTIŞMA

HT, dünyada kronik hastalıklar göz önünde bulundurulduğunda sağlık açısından en önemli riskleri taşıyan bir hastalıktır (53).

Yaş, ırk ve cinsiyet gibi etmenler dünya çapında HT'nin prevalansını etkiler. Örneğin, Avrupa'da yapılan bir çalışmada, HT'nin prevalansının erkeklerde %30, kadınlarda ise %25 olduğu bulunmuştur (54).

Asya ülkelerinde ise bu oranlar daha da artmış olabilir. Bu artış yaşam tarzı, diyet ve genetik faktörlere bağlanmaktadır. HT; yüksek kolesterol, diyabet ve aşırı kilo gibi sorunlar ile sıkça ilişkilidir (55).

Hipertansiyonun bu denli yaygın olması, profilaksi ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesinin önemini göstermektedir. Bu stratejiler arasında halk sağlığı programları, farkındalık kampanyaları ve erken teşhisi hedefleyen sağlık kontrolleri önemli yer tutmaktadır. Ayrıca, yaşam tarzı değişiklikleri, sağlıklı ve düzenli beslenme, tuz tüketiminin azaltılması, günlük hafif egzersiz gibi önlemler HT riskini azaltmada kritik rol oynamaktadır (56,57).

KB'nin düzenlenmesinde RAS, kardiyovasküler ve renal sistemin homeostazında önemli rolü olan enzimatik ve hormonal bir yolaktır. RAS'ta bulunan AT1 ve AT2, kardiyovasküler ve renal sistemin fonksiyonları açısından oldukça önemlidir. AT1'in hücre proliferasyonu, vazokonstriksiyon ve aldosteron salımı gibi HT ile bağlantılı birçok rolü bulunurken, AT2'nin genellikle bu etkilerin zıttı olan hücre farklılaşması, vazodilatasyon ve anti-inflamasyon gibi koruyucu rolleri bulunmaktadır (6,7).

Çalışmamızda kullanılan C21; AT2 agonisti, EMPA ise SGLT-2 inhibitörü olarak HT tedavisinde potansiyel faydalar gösteren ajanlardır (58,59).

Çalışmamızda kullanılan NOS inhibitörü olan L-NAME, sıçanlarda HT modeli oluşturmak için sıklıkla kullanılan bir ajandır (60). Riberio ve arkadaşları 1992 yılında yaptıkları çalışmada sıçanlara L-NAME uygulayarak HT oluşumu gözlemlemişlerdir (61). Biancardi ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları çalışmada sıçanlara L-NAME uygulayarak HT oluşumu gözlemlemişlerdir (62). Peredes ve arkadaşları 2018 yılında yaptıkları çalışmada sıçanlara L-NAME uygulayarak HT oluşumu gözlemlemişlerdir (63). Chia ve arkadaşları 2021 yılında yaptıkları çalışmada sıçanlara L-NAME uygulayarak HT oluşumu gözlemlemişlerdir (64).

Sıçanların kalp ağırlıkları karşılaştırıldığında HT grubunda K grubuna göre anlamlı fark görülmüştür ($p=0.1193$). Sıçanların kalp ağırlıkları karşılaştırıldığında HT grubunda HT+C21 grubuna göre anlamlı fark görülürken ($p=0.1193$), HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmemiştir. Sıçanların böbrek ağırlıkları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir (Tablo 4.2). Striffler ve arkadaşları 1998 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada hipertansif tedavi uygulanan grupta kalp ağırlığında azalma gözlemlenmiştir (65). Rathinasabapathy ve arkadaşları 2018 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada C21'in sağ ventriküler hipertrofiyi azalttığını gözlemlenmiştir (66).

HT grubundaki 24 saatlik su tüketimi ($p=0.00116$) ve idrar çıkışı ($p<0.001$) miktarında K grubuna göre anlamlı fark görülmesi, sıçanlarda HT'nin su tüketimi ve idrar çıkışını arttırdığının göstergesidir. Bunun yanında HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarındaki 24 saatlik su tüketimi ve idrar çıkışı miktarının HT grubuna göre daha az olduğu görülmüştür. HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA grupları kendi arasında karşılaştırıldığında 24 saatlik su tüketimi ve idrar çıkışı miktarı en düşük HT+C21 grubunda görülmüştür (Tablo 4.3). Oster ve arkadaşları 1943 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada HT'nin su tüketimini arttırdığını gözlemlenmiştir (67). Abe ve arkadaşları 1987 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada HT'nin su tüketimini arttırdığını gözlemlenmiştir (68). Turner ve arkadaşları 2018 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada HT'nin su tüketimini ve idrar çıkışını arttırdığını gözlemlenmiştir (69).

Sıçanların KH değerleri, HT+C21 grubunda HT grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Ancak HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarında KH değerleri HT grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunamamıştır. Sıçanların KB_{sistol} değerleri, HT grubunda K grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.00685$). Sıçanların KB_{sistol} değerleri, HT+C21 grubunda HT grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.00685$). HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında HT+C21'in KB_{sistol} değerleri HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarına göre anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.00685$). Sıçanların QRS değerleri, HT grubunda K grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.04928$). Sıçanların PR, QRS ve QT süreleri HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (Tablo 4.4). Bosnyak ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları

çalışmada C21'in KB değerinde düşüş sağladığını gözlemlemişlerdir (70). Tikkanen ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları çalışmada EMPA'nın KB değerinde anlamlı düşüş sağladığını gözlemlemişlerdir (71). Mancia ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları çalışmada EMPA'nın KB_{sistol} ve KB_{diastol} değerlerinde düşüş sağladığını gözlemlemişlerdir (72). Dai ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları çalışmada C21'in KB değerlerinde düşüş sağladığını gözlemlemişlerdir (73). Baka ve arkadaşları 2019 yılında yaptıkları çalışmada hipertansif tedavinin KH değerinde düşüş sağladığını gözlemlemişlerdir (74). Kim ve arkadaşları 2019 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada EMPA'nın KB_{sistol} değerinde anlamlı düşüş sağladığını gözlemlemişlerdir (75). Ulutaş ve arkadaşları 2020 yılında yaptıkları çalışmada hipertansif sıçanlarda C21'in KB değerinde anlamlı düşüş sağladığını ancak gruplar arasında KH değerlerinde anlamlı fark olmadığını gözlemlemişlerdir (76). Kolkhof ve arkadaşları 2021 yılında yaptıkları çalışmada hipertansif sıçanlarda EMPA'nın KB değerinde anlamlı düşüş sağladığını gözlemlemişlerdir (77). Meredith ve arkadaşları 2022 yılında yaptıkları çalışmada düşük ve orta yoğunlukta egzersizin hipertansif sıçanlar üzerinde KH ve KB değerlerinde düşüş sağladığını gözlemlemişlerdir (78).

Wang ve arkadaşları 2017 yılında, Vrankova ve arkadaşları 2019 yılında, Park ve arkadaşları 2021 yılında, Zhu ve arkadaşları 2022 yılında; L-NAME'nin dokularda sebep olduğu hasarda oksidatif stresin rolünü gözlemlemiştir (79–82). L-NAME'nin kalp, torasik aort ve böbrekte sebep olduğu oksidatif hasarın ve C21 ve EMPA'nın tek tek ve kombine etkisini görebilmek için çalışmamızda oksidatif hasar belirteçlerinden MDA, GSH, SOD, CAT, GPx, TAS, TOS ve OSİ'nin analizleri yapılmıştır.

Kalbin biyokimyasal incelemesinde HT grubu, K grubu ile karşılaştırıldığında MDA, GSH, SOD, CAT, GPx, TAS, TOS ve OSİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmesi (Tablo 4.5) L-NAME'in HT grubuna verdiği hasarın göstergesidir. Bilanda ve arkadaşları 2017 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada L-NAME uygulanan grupta bizim çalışmamızda olduğu gibi kalp incelendiğinde MDA değerinde artış, SOD ve GSH değerlerinde azalma gözlemlemişlerdir (83). Hamounpeima ve arkadaşları 2019 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada L-NAME uygulanan grupta bizim çalışmamızda olduğu gibi kalp incelendiğinde MDA değerinde artış, SOD ve CAT değerlerinde azalma gözlemlemişlerdir (84). HT grubu, HT+C21 grubu ile karşılaştırıldığında SOD ve GPx değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.5). HT grubu, HT+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında MDA, SOD, CAT ve GPx değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı

fark görülmüştür (Tablo 4.5). HT grubu, HT+C21+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında GSH, SOD, CAT ve GPx değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.5). HT+C21 grubu, HT+C21+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında GSH değerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.5). HT+EMPA grubu, HT+C21+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında GSH ve SOD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.5). Bugga ve arkadaşları 2022 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada EMPA'nın oksidatif stresi azaltarak kalp üzerine koruyucu etkiler sergilediğini gözlemlemişlerdir (85). Rehman ve arkadaşları 2012 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada C21'in oksidatif stresi azaltarak kalp üzerine koruyucu etkiler sergilediğini gözlemlemişlerdir (86).

Böbreğin biyokimyasal incelemesinde HT grubu, K grubu ile karşılaştırıldığında MDA, GSH, SOD, CAT, GPx, TAS, TOS ve OSİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmesi (Tablo 4.6) L-NAME'in HT grubuna verdiği hasarın göstergesidir. Bilanda ve arkadaşları 2017 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada L-NAME uygulanan grupta bizim çalışmamızda olduğu gibi böbrek incelendiğinde MDA değerinde artış, SOD ve GSH değerlerinde azalma gözlemlemişlerdir (83). HT grubu, HT+C21 grubu ile karşılaştırıldığında MDA, TAS ve OSİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.6). HT grubu, HT+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında MDA, GSH, CAT, GPx, TAS, TOS ve OSİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.6). HT grubu, HT+C21+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında MDA, GSH, SOD, CAT, GPx, TAS ve OSİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.6). HT+C21 grubu, HT+C21+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında GSH, SOD ve GPx değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.6). HT+C21 grubu, HT+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında GSH değerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.6). HT+EMPA grubu, HT+C21+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında SOD değerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.6). Hrenák ve arkadaşları 2013 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada hasar grubunda azalan TAS değerini C21'in arttırdığını gözlemlemişlerdir (87). Patel ve arkadaşları 2016 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada C21'in oksidatif stres ve inflamasyonu azaltarak böbrek üzerine koruyucu etkiler sergilediğini gözlemlemişlerdir (31). Pandey ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmada C21'in, apoptozu engelleyerek böbrek hasarını azalttığını gözlemlemişlerdir (88). Trnovska ve arkadaşları

2021 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada EMPA'nın oksidatif stresi azaltarak böbrek üzerine koruyucu etkiler sergilediğini gözlemlemişlerdir (89).

Torasik aortun biyokimyasal incelemesinde HT grubu, K grubu ile karşılaştırıldığında MDA, GSH, SOD, CAT, GPx, TAS, TOS ve OSI değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmesi (Tablo 4.7) L-NAME'in HT grubuna verdiği hasarın göstergesidir. Saravanakumar ve arkadaşları 2015 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada L-NAME uygulanan grupta bizim çalışmamızda olduğu gibi aort incelendiğinde SOD, CAT ve GPx değerlerinde azalma gözlemlemişlerdir (90). Bilanda ve arkadaşları 2017 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada L-NAME uygulanan grupta bizim çalışmamızda olduğu gibi aort incelendiğinde MDA değerinde artış, SOD ve GSH değerlerinde azalma gözlemlemişlerdir (83). HT grubu, HT+C21 grubu ile karşılaştırıldığında GSH, SOD, CAT ve GPx değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.7). HT grubu, HT+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında GSH ve SOD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.7). HT grubu, HT+C21+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında MDA, GSH, SOD, CAT ve GPx değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.7). HT+C21 grubu, HT+C21+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında SOD ve CAT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.7). HT+EMPA grubu, HT+C21+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında SOD değerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.7). Verdonk ve arkadaşları 2012 yılında yaptıkları çalışmada C21'in arteriyel vazodilatasyonu arttırdığını gözlemlemişlerdir (91). Gao ve arkadaşları 2014 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada C21'in arteriyel barorefleks duyarlılığını arttırdığını gözlemlemişlerdir (92). Sampson ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları çalışmada C21'in vasküler inflamasyonu azalttığını gözlemlemişlerdir (93). Bruckert ve arkadaşları 2022 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada EMPA'nın aortta oksidatif stresi azalttığını gözlemlemişlerdir (94). Herat ve arkadaşları 2022 yılında yaptıkları çalışmada SGLT-2 inhibisyonunun arteriyel sertliği iyileştirmesi ve endotel disfonksiyonunu azaltması yoluyla HT'ye sağladığı katkıdan bahsetmişlerdir (95).

Kalbin histopatolojik incelemesinde HT grubu, K grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik hasar skorunun istatistiksel olarak anlamlı derecede artması ($p<0.0001$) ve eozinofilik sitoplazmalı, koyu nükleuslu dejenere kardiyomiyositlerde (Şekil 4.12 A), inflamatuvar hücre infiltrasyonunda (Şekil 4.12 B), hemorajide (Şekil 4.12 C) ve kolajen miktarındaki artışta (Şekil 4.13 A-B) istatistiksel olarak anlamlı fark görülmesi (Tablo 4.11) L-NAME'in HT grubuna verdiği hasarın göstergesidir. Penchanova ve

arkadaşları 1999 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada L-NAME uygulanan gruplarda histolojik incelemelerde kalpteki hasarın arttığını gözlemlemişlerdir (96). Lee ve arkadaşları 2009 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada L-NAME uygulanan grupta histolojik incelemelerde kalpteki hasarın arttığını gözlemlemişlerdir (97).

Kalbin histopatolojik incelemesinde HT grubu ile karşılaştırıldığında HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarında hasarın azaldığı, kolajen miktarındaki artışın azaldığı ve histopatolojik hasar skorunun istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p<0.0001$). Ulutaş ve arkadaşları 2020 yılında yaptıkları çalışmada histopatolojik incelemelerde hipertansif sıçanlarda C21'in kalp dokusu üzerine olumlu etkilerini gözlemlemişlerdir (76). Kräker ve arkadaşları 2020 yılında yaptıkları çalışmada immunohistokimyasal incelemelerde EMPA'nın kalp dokusu üzerine olumlu etkilerini gözlemlemişlerdir (98). Ermiş ve arkadaşları 2023 yılında yaptıkları çalışmada histopatolojik incelemelerde C21'in kalp dokusu üzerine olumlu etkilerini gözlemlemişlerdir (99).

Kalbin immünohistokimyasal incelemesinde HT grubu K grubu ile karşılaştırıldığında AT2 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ($p<0.0001$) (Şekil 4.17). Bu durum HT grubunda L-NAME'nin verdiği hasarın AT2 reseptör upregülasyonuna neden olduğunun göstergesidir. Kaschina ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmada doku hasarı bulunan sıçanlarda AT2 upregülasyonunu gözlemlemişlerdir (100). HT grubu; HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarıyla karşılaştırıldığında AT2 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı tespit edilmiştir.

Torasik aortun histopatolojik incelemesinde HT grubunda K grubundan farklı olarak dilatasyon ve elastik lamellerde düzensizlik gözlemlendi. Dilatasyon ve elastik lamellerde düzensizlik HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarında K grubuna benzer şekilde gözlemlendi. Chow ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları çalışmada aort üzerine histopatolojik incelemelerde C21'in oksidatif stresi, makrofaj infiltrasyonunu ve fibrozisi azaltarak aort plak birikimini azalttığını gözlemlemişlerdir (101). Lange ve arkadaşları 2018 yılında yaptıkları çalışmada aort üzerine histopatolojik incelemelerde C21'in aort dokusu üzerine olumlu etkilerini gözlemlemişlerdir (102). Bruckert ve arkadaşları 2022 yılında yaptıkları çalışmada aort üzerine immunofloresan incelemelerde EMPA'nın aort dokusu üzerine olumlu etkilerini gözlemlemişlerdir (94).

Böbreğin histopatolojik incelemesinde HT grubu, K grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik hasar skorunun istatistiksel olarak anlamlı derecede artması ($p<0.001$) ve kortekste intertübüler alanda hemoraji ve konjesyonda (Şekil 4.20A), bazı glomerüllerde kollaps ve infiltrasyon alanlarında (Şekil 4.20 B), tübül hücrelerinde dejenerasyonda (Şekil 4.20 C) ve intertübüler aralıklarda eosinofilik hyalin cast birikiminde (Şekil 4.20 D) istatistiksel olarak anlamlı fark görülmesi (Tablo 4.12) L-NAME'nin HT grubuna verdiği hasarın göstergesidir. Ndisang ve arkadaşları 2015 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada L-NAME uygulanan gruplarda histolojik incelemelerde böbrekteki hasarın arttığını gözlemlemişlerdir (103). Corremans ve arkadaşları 2021 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada L-NAME uygulanan gruplarda histolojik incelemelerde böbrekteki hasarın arttığını gözlemlemişlerdir (104).

Böbreğin histopatolojik incelemesinde HT grubu ile karşılaştırıldığında HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarında hasarın azaldığı, böbrek dokusunun histolojik olarak normale yaklaştığı ve histopatolojik değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p<0.001$). Castoldi ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları çalışmada histolojik incelemelerde C21'in böbrek dokusu üzerine olumlu etkilerini gözlemlemişlerdir (105). Gembardt ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları çalışmada histolojik incelemelerde EMPA'nın diyabetik nefropati belirtilerini azalttığını gözlemlemişlerdir (106). Pandey ve arkadaşları 2017 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada histolojik incelemelerde C21'in böbrek hasarını azalttığını gözlemlemişlerdir (107). Domon ve arkadaşları 2021 yılında yaptıkları çalışmada histolojik incelemelerde EMPA'nın böbrek dokusu üzerine olumlu etkilerini gözlemlemişlerdir (108). Williams ve arkadaşları 2022 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada EMPA'nın glomerüler hasarı ve renal fibrozisi azalttığını gözlemlemişlerdir (109). Chen ve arkadaşları 2023 yılında yaptıkları çalışmada histolojik incelemelerde EMPA'nın böbrek dokusu üzerine olumlu etkilerini gözlemlemişlerdir (110). Kadhim ve arkadaşları 2023 yılında yaptıkları çalışmada histolojik incelemelerde C21'in böbrek hasarını azalttığını gözlemlemişlerdir (111).

Böbreğin immünohistokimyasal incelemesinde HT grubunda AT2 (+) tübül yoğunluğunun ve SGLT2 (+) hücre sayısının K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ($p<0.0001$) (Şekil 4.24 ve 4.25). Bu durum HT grubunda L-NAME'nin verdiği hasarın AT2 ve SGLT2 reseptör upregülasyonuna neden olduğunun göstergesidir. Kaschina ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmada doku hasarı bulunan sıçanlarda AT2 upregülasyonunu gözlemlemişlerdir

(100). Skrabic ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmada diyabetin böbreklere verdiği hasar kaynaklı SGLT2 upregülasyonunu gözlemlemişlerdir (112). HT grubunda AT2 (+) tübül yoğunluğunun HT+C21, HT+EMPA ve HT+C21+EMPA gruplarıyla karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

HT grubu K grubu ile karşılaştırıldığında KB_{sistol} değerlerinin artması, QRS intervalinin uzaması, kalbin biyokimyasal incelemesinde MDA, TOS ve OSİ değerlerinin artması, GSH, SOD, CAT, GPx ve TAS değerlerinin azalması, böbreğin biyokimyasal incelemesinde MDA, TOS ve OSİ değerlerinin artması, GSH, SOD, CAT, GPx ve TAS değerlerinin azalması, torasik aortun biyokimyasal incelemesinde MDA, TOS ve OSİ değerlerinin artması, GSH, SOD, CAT, GPx ve TAS değerlerinin azalması, kalbin histopatolojik incelemesinde hasar skorunun artması, kalbin immünohistokimyasal incelemesinde AT2 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun artması, böbreğin histopatolojik incelemesinde hasar skorunun artması, böbreğin immünohistokimyasal incelemesinde AT2 (+) tübül yoğunluğu ve SGLT2 (+) hücre sayısının artması, torasik aortun histopatolojik incelemesinde dilatasyon ve elastik lamellerde düzensizlik görülmesi 4 hafta boyunca 40 mg/kg dozda i.p. olarak uygulanan L-NAME'in sıçanlarda HT modelini oluşturduğunu göstermektedir.

HT+C21 grubu HT grubu ile karşılaştırıldığında kalp ağırlıklarının azalması, KB_{sistol} değerlerinin azalması, kalbin biyokimyasal incelemesinde SOD ve GPx değerlerinin artması, böbreğin biyokimyasal incelemesinde MDA ve OSİ değerlerinin azalması, TAS değerinin artması, torasik aortun biyokimyasal incelemesinde GSH, SOD, CAT ve GPx değerlerinin artması, kalbin ve böbreğin histopatolojik incelemesinde hasar skorunun azalması ile C21'in HT üzerine olumlu etkilerinin olduğu hemodinamik, biyokimyasal ve histolojik analizlerle görülmüştür.

HT+EMPA grubu HT grubu ile karşılaştırıldığında kalbin biyokimyasal incelemesinde MDA değerinin azalması, SOD, CAT ve GPx değerlerinin artması, böbreğin biyokimyasal incelemesinde MDA, TOS ve OSİ değerlerinin azalması, GSH, CAT, GPx ve TAS değerlerinin artması, torasik aortun biyokimyasal incelemesinde GSH ve SOD değerlerinin artması, kalbin ve böbreğin histopatolojik incelemesinde hasar skorunun azalması ile EMPA'nın HT üzerine olumlu etkilerinin olduğu hemodinamik, biyokimyasal ve histolojik analizlerle görülmüştür.

HT+C21+EMPA grubu HT grubu ile karşılaştırıldığında kalbin biyokimyasal incelemesinde SOD, CAT ve GPx değerlerinin artması, böbreğin biyokimyasal incelemesinde MDA ve OSİ değerlerinin azalması, GSH, SOD, CAT, GPx ve TAS değerlerinin artması, torasik aortun biyokimyasal incelemesinde MDA değerinin

azalması, GSH, SOD, CAT ve GPx değerlerinin artması, kalbin ve böbreğin histopatolojik incelemesinde hasar skorunun azalması ile C21 ve EMPA'nın kombine kullanımının HT üzerine olumlu etkilerinin olduğu hemodinamik, biyokimyasal ve histolojik analizlerle görülmüştür.

HT+C21 grubu HT+EMPA ve HT+C21+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında KB_{sistol} değerlerinin azalması C21'in tek başına kan basıncı üzerine daha etkili olduğunu göstermektedir.

HT+EMPA grubu HT+C21 grubu ile karşılaştırıldığında böbreğin biyokimyasal incelemesinde GSH değerinin artması C21'in EMPA'ya göre böbrek dokusunda GSH değeri üzerine daha etkili olduğunu göstermektedir.

HT+C21+EMPA grubu HT+C21 grubu ile karşılaştırıldığında kalbin biyokimyasal incelemesinde GSH değerinin azalması, böbreğin biyokimyasal incelemesinde GSH, SOD ve GPx değerlerinin artması, torasik aortun biyokimyasal incelemesinde SOD ve CAT değerlerinin artması C21'in kombine tedavide kalp üzerine etkisinin azaldığını ancak tek başına kullanıldığında daha etkili olduğunu, EMPA'nın C21'e göre böbrek ve torasik aort üzerine yararlı etkilerinin daha fazla olduğunu göstermektedir.

HT+C21+EMPA grubu HT+EMPA grubu ile karşılaştırıldığında kalbin biyokimyasal incelemesinde GSH değerinin azalması, böbreğin biyokimyasal incelemesinde SOD değerinin artması, torasik aortun biyokimyasal incelemesinde SOD değerinin artması, EMPA'nın kombine tedavide kalp üzerine etkisinin azaldığını ancak tek başına kullanıldığında daha etkili olduğunu, EMPA'nın C21 ile kombine kullanımının EMPA'nın tek başına kullanımına göre böbrek ve torasik aort üzerine yararlı etkilerinin daha fazla olduğunu göstermektedir.

Elde edilen bu veriler doğrultusunda C21 ve EMPA'nın tek tek ve kombine etkilerine bakıldığında kalp, böbrek ve damar dokusu üzerine gösterdiği olumlu sonuçlar, C21 ve EMPA'nın farklı süre ve dozlarda kullanımı ile HT profilaksi ve tedavisinde olumlu sonuçlar doğurabileceğini göstermektedir. Buradan hareketle çalışmamız ileri çalışmalarla desteklenebilme potansiyeline sahiptir.

KAYNAKLAR

1. Carretero OA, Oparil S. Essential hypertension. Part I: definition and etiology. *Circulation*. 2000;101(3):329-35.
2. Verma N, Rastogi S, Chia YC, Siddique S, Turana Y, Cheng H min, vd. Non-pharmacological management of hypertension. *The Journal of Clinical Hypertension*. 2021;23(7):1275-83.
3. Beckett NS, Peters R, Fletcher AE, Staessen JA, Liu L, Dumitrascu D, vd. Treatment of hypertension in patients 80 years of age or older. *N Engl J Med*. 2008;358(18):1887-98.
4. Weber MA, Schiffrin EL, White WB, Mann S, Lindholm LH, Kenerson JG, vd. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American society of hypertension and the international society of hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2014;16(1):14-26.
5. Mirabito Colafella KM, Bovée DM, Danser AHJ. The renin-angiotensin-aldosterone system and its therapeutic targets. *Exp Eye Res*. 2019;186:107680.
6. Bai F, Pang XF, Zhang LH, Wang NP, McKallip RJ, Garner RE, vd. Angiotensin II AT1 receptor alters ACE2 activity, eNOS expression and CD44-hyaluronan interaction in rats with hypertension and myocardial fibrosis. *Life Sciences*. 2016;153:141-52.
7. Deshayes F, Nahmias C. Angiotensin receptors: a new role in cancer? *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2005;16(7):293-9.
8. Gelband CH, Zhu M, Lu D, Reagan LP, Fluharty SJ, Posner P, vd. Functional interactions between neuronal AT1 and AT2 receptors. *Endocrinology*. 1997;138(5):2195-8.
9. Bailey CJ, Gross JL, Pieters A, Bastien A, List JF. Effect of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes who have inadequate glycaemic control with metformin: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2010;375(9733):2223-33.
10. Zanchi A, Schaad NC, Osterheld MC, Grouzmann E, Nussberger J, Brunner HR, vd. Effects of chronic NO synthase inhibition in rats on renin-angiotensin system and sympathetic nervous system. *Am J Physiol*. 1995;268(6 Pt 2):H2267-73.

11. Ventura HO, Lavie CJ. Editorial: epidemiology and managing aspects of hypertension. *Curr Opin Cardiol*. 2019;34(4):329-30.
12. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE, Collins KJ, Dennison Himmelfarb C, vd. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: executive summary: a report of the American college of cardiology/American heart association task force on clinical practice guidelines. *Hypertension*. 2018;71(6):1269-324.
13. Helms MV, Edwards AL, Suszynsky TH, Hwang AY. Prescribing Patterns of Antihypertensive Agents and Blood Pressure Control Among Patients With Incident Stage 2 Hypertension. *J Pharm Technol*. 2022;38(3):142-7.
14. Neutel JM, Smith DHG, Silfani TN, Lee Y, Weber MA. Effects of a structured treatment algorithm on blood pressure goal rates in both stage 1 and stage 2 hypertension. *J Hum Hypertens*. 2006;20(4):255-62.
15. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991;43(2):109-42.
16. Zatz R, Baylis C. Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension*. 1998;32(6):958-64.
17. Doggrell SA, Brown L. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovascular Research*. 1998;39(1):89-105.
18. Yamada SS, Sasaki AL, Fujihara CK, Malheiros DM, De Nucci G, Zatz R. Effect of salt intake and inhibitor dose on arterial hypertension and renal injury induced by chronic nitric oxide blockade. *Hypertension*. 1996;27(5):1165-72.
19. Ferdinandy P, Schulz R. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *Br J Pharmacol*. 2003;138(4):532-43.
20. Chen J xiang, Xue K yue, Xin J juan, Yan X, Li RL, Wang XX, vd. 5-Lipoxygenase deficiency attenuates L-NAME-induced hypertension and vascular remodeling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2019;1865(9):2379-92.
21. Sohn EJ, Kang DG, Choi DH, Lee AS, Mun YJ, Woo WH, vd. Effect of methanol extract of *Sorbus* cortex in a rat model of L-NAME-induced atherosclerosis. *Biol Pharm Bull*. 2005;28(7):1239-43.

22. Mattson DL, Higgins DJ. Influence of dietary sodium intake on renal medullary nitric oxide synthase. *Hypertension*. 1996;27(3 Pt 2):688-92.
23. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev*. 2006;86(3):747-803.
24. Dell'Italia LJ. Translational success stories: angiotensin receptor 1 antagonists in heart failure. *Circ Res*. 2011;109(4):437-52.
25. Jones ES, Vinh A, McCarthy CA, Gaspari TA, Widdop RE. AT2 receptors: functional relevance in cardiovascular disease. *Pharmacol Ther*. 2008;120(3):292-316.
26. Verdonk K, Danser AHJ, van Esch JHM. Angiotensin II type 2 receptor agonists: where should they be applied? *Expert Opin Investig Drugs*. 2012;21(4):501-13.
27. Unger T, Sandmann S. Angiotensin receptor blocker selectivity at the AT1- and AT2-receptors: conceptual and clinical effects. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2000;1(2 Suppl):S6-9.
28. Wan Y, Wallinder C, Plouffe B, Beaudry H, Mahalingam AK, Wu X, vd. Design, synthesis, and biological evaluation of the first selective nonpeptide AT2 receptor agonist. *J Med Chem*. 2004;47(24):5995-6008.
29. Wan Y, Wallinder C, Johansson B, Holm M, Mahalingam AK, Wu X, vd. First reported nonpeptide AT1 receptor agonist (L-162,313) acts as an AT2 receptor agonist in vivo. *J Med Chem*. 2004;47(6):1536-46.
30. Kemp BA, Howell NL, Keller SR, Gildea JJ, Padia SH, Carey RM. AT2 receptor activation prevents sodium retention and reduces blood pressure in angiotensin II-dependent hypertension. *Circ Res*. 2016;119(4):532-43.
31. Patel SN, Ali Q, Hussain T. Angiotensin II type 2-receptor agonist C21 reduces proteinuria and oxidative stress in kidney of high-salt-fed obese zucker rats. *Hypertension*. 2016;67(5):906-15.
32. Koulis C, Chow BSM, McKelvey M, Steckelings UM, Unger T, Thallas-Bonke V, vd. AT2R agonist, compound 21, is reno-protective against type 1 diabetic nephropathy. *Hypertension*. 2015;65(5):1073-81.
33. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, vd. Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2015;373(22):2117-28.
34. Acet HA, Parlakpınar H. ACET Kardiyovasküler Sistem Farmakolojisi, 1. Baskı. Malatya, İnönü Üniversitesi Yayınevi, 2020:120-1.

35. Ferdinand KC, Izzo JL, Lee J, Meng L, George J, Salsali A, vd. Antihyperglycemic and blood pressure effects of empagliflozin in black patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension. *Circulation*. 2019;139(18):2098-109.
36. Swedberg K, Young JB, Anand IS, Cheng S, Desai AS, Diaz R, vd. Treatment of anemia with darbepoetin alfa in systolic heart failure. *N Engl J Med*. 2013;368(13):1210-9.
37. Perkovic V, Jardine MJ, Neal B, Bompoint S, Heerspink HJL, Charytan DM, vd. Canagliflozin and renal outcomes in type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med*. 2019;380(24):2295-306.
38. Arslan AK, Yaşar Ş, Çolak C, Yoloğlu S. WSSPAS: an interactive web application for sample size and power analysis with r using shiny. *Turkiye Klinikleri J Biostat*. 2018;10(3):224-46.
39. Blenck CL, Harvey PA, Reckelhoff JF, Leinwand LA. The importance of biological sex and estrogen in rodent models of cardiovascular health and disease. *Circ Res*. 2016;118(8):1294-312.
40. Mutlu E, İlhan S, Onat E, Kara M, Şahna E. The effects of novokinin, an AT2 agonist, on blood pressure, vascular responses, and levels of ADMA, NADPH oxidase, and Rho kinase in hypertension induced by NOS inhibition and salt. *Turk J Med Sci*. 2016;46(4):1249-57.
41. Ozhan O, Parlakpınar H, Acet A. Comparison of the effects of losartan, captopril, angiotensin II type 2 receptor agonist compound 21, and MAS receptor agonist AVE 0991 on myocardial ischemia-reperfusion necrosis in rats. *Fundam Clin Pharmacol*. 2021;35(4):669-80.
42. Reverte V, Rodriguez F, Oltra L, Moreno JM, Llinás MT, Shea CM, vd. SGLT2 inhibition potentiates the cardiovascular, renal, and metabolic effects of sGC stimulation in hypertensive rats with prolonged exposure to high-fat diet. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2022;322(4):H523-36.
43. Parasuraman S, Raveendran R. Measurement of invasive blood pressure in rats. *J Pharmacol Pharmacother*. 2012;3(2):172-7.
44. Colak C, Parlakpınar H, Ermis N, Tagluk ME, Colak C, Sarihan E, vd. Effects of electromagnetic radiation from 3G mobile phone on heart rate, blood pressure and ECG parameters in rats. *Toxicol Ind Health*. 2012;28(7):629-38.

45. Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ, Campbell RW, Janse MJ, Yellon DM, vd. The lambeth conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res.* 1988;22(7):447-55.
46. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978;86(1):271-8.
47. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* 1959;82(1):70-7.
48. Waterborg JH, Matthews HR. The Lowry method for protein quantitation. *Methods Mol Biol.* 1994;32:1-4.
49. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 1988;34(3):497-500.
50. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-6.
51. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70(1):158-69.
52. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004;37(4):277-85.
53. Levy E, Spahis S, Bigras JL, Delvin E, Borys JM. The epigenetic machinery in vascular dysfunction and hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2017;19(6):52.
54. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, vd. 2018 ESC/ESH guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J.* 2018;39(33):3021-104.
55. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet.* 2005;365(9455):217-23.
56. Mills KT, Obst KM, Shen W, Molina S, Zhang HJ, He H, vd. Comparative effectiveness of implementation strategies for blood pressure control in hypertensive patients: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2018;168(2):110-20.
57. Khan NA, McAlister FA, Rabkin SW, Padwal R, Feldman RD, Campbell NR, vd. The 2006 Canadian hypertension education program recommendations for the management of hypertension: part II - therapy. *Can J Cardiol.* 2006;22(7):583-93.

58. Bosnyak S, Jones ES, Christopoulos A, Aguilar MI, Thomas WG, Widdop RE. Relative affinity of angiotensin peptides and novel ligands at AT1 and AT2 receptors. *Clin Sci (Lond)*. 2011;121(7):297-303.
59. Cherney DZI, Perkins BA, Soleymanlou N, Maione M, Lai V, Lee A, vd. Renal hemodynamic effect of sodium-glucose cotransporter 2 inhibition in patients with type 1 diabetes mellitus. *Circulation*. 2014;129(5):587-97.
60. Sozer V, Uzun H, Gelisgen R, Kaya M, Kalayci R, Tabak O, vd. The effects of atorvastatin on oxidative stress in L-NAME-treated rats. *Scand J Clin Lab Invest*. 2013;73(7):591-7.
61. Ribeiro MO, Antunes E, de Nucci G, Lovisolo SM, Zatz R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension*. 1992;20(3):298-303.
62. Biancardi VC, Bergamaschi CT, Lopes OU, Campos RR. Sympathetic activation in rats with L-NAME-induced hypertension. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(3):401-8.
63. Paredes MD, Romecin P, Atucha NM, O'Valle F, Castillo J, Ortiz MC, vd. Beneficial effects of different flavonoids on vascular and renal function in L-NAME hypertensive rats. *Nutrients*. 2018;10(4):484.
64. Chia TY, Murugaiyah V, Khan NA, Sattar MA, Abdulla MH, Johns EJ, vd. Inhibition of L-NAME-induced hypertension by combined treatment with apocynin and catalase: the role of Nox 4 expression. *Physiol Res*. 2021;70(1):13-26.
65. Striffler JS, Bhathena SJ, Michaelis OE, Campbell JD, Hansen CT, Scalbert E, vd. Long-term effects of perindopril on metabolic parameters and the heart in the spontaneously hypertensive/NIH-corpulent rat with non-insulin-dependent diabetes mellitus and hypertension. *Metabolism - Clinical and Experimental*. 1998;47(10):1199-204.
66. Rathinasabapathy A, Horowitz A, Horton K, Kumar A, Gladson S, Unger T, vd. The selective angiotensin II type 2 receptor agonist, compound 21, attenuates the progression of lung fibrosis and pulmonary hypertension in an experimental model of bleomycin-induced lung injury. *Front Physiol*. 2018;9:180.
67. Oster KA, Martinez O. Water metabolism in hypertensive rats. *Journal of Experimental Medicine*. 1943;78(6):477-87.

68. Abe M, Shibata K, Matsuda T, Furukawa T. Inhibition of hypertension and salt intake by oral taurine treatment in hypertensive rats. *Hypertension*. 1987;10(4):383-9.
69. Turner T, Chen X, Zahner M, Opsahl A, DeMarco G, Boucher M, vd. FGF21 increases water intake, urine output and blood pressure in rats. *Plos One*. 2018;13(8):e0202182.
70. Bosnyak S, Welungoda IK, Hallberg A, Alterman M, Widdop RE, Jones ES. Stimulation of angiotensin AT2 receptors by the non-peptide agonist, Compound 21, evokes vasodepressor effects in conscious spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol*. 2010;159(3):709-16.
71. Tikkanen I, Narko K, Zeller C, Green A, Salsali A, Broedl UC, vd. Empagliflozin reduces blood pressure in patients with type 2 diabetes and hypertension. *Diabetes Care*. 2015;38(3):420-8.
72. Mancia G, Cannon CP, Tikkanen I, Zeller C, Ley L, Woerle HJ, vd. Impact of empagliflozin on blood pressure in patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension by background antihypertensive medication. *Hypertension*. 2016;68(6):1355-64.
73. Dai SY, Zhang YP, Peng W, Shen Y, He JJ. Central infusion of angiotensin II type 2 receptor agonist compound 21 attenuates DOCA/NaCl-induced hypertension in female rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:3981790.
74. Baka T, Simko F. Ivabradine reversed nondipping heart rate in rats with L-NAME-induced hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2019;46(6):607-10.
75. Kim S, Jo CH, Kim GH. Effects of empagliflozin on nondiabetic salt-sensitive hypertension in uninephrectomized rats. *Hypertens Res*. 2019;42(12):1905-15.
76. Ulutas Z, Ermis N, Ozhan O, Parlakpınar H, Vardi N, Ates B, vd. The protective effects of compound 21 and valsartan in isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *Cardiovasc Toxicol*. 2021;21(1):17-28.
77. Kolkhof P, Hartmann E, Freyberger A, Pavkovic M, Mathar I, Sandner P, vd. Effects of finerenone combined with empagliflozin in a model of hypertension-induced end-organ damage. *Am J Nephrol*. 2021;52(8):642-52.
78. Meredith K, Luckey S. Run for your life: a meta- analysis of the effects of exercise intensity on cardiovascular outcomes in a rat model of hypertension. *The Faseb Journal*. 2022;36.

79. Wang Y, Zhang F, Liu Y, Yin S, Pang X, Li Z, vd. Nebivolol alleviates aortic remodeling through eNOS upregulation and inhibition of oxidative stress in L-NAME-induced hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens*. 2017;39(7):628-39.
80. Vrankova S, Zemancikova A, Torok J, Pechanova O. Effect of low dose L-NAME pretreatment on nitric oxide/reactive oxygen species balance and vasoactivity in L-NAME/salt-induced hypertensive rats. *J Physiol Pharmacol*. 2019;70(4).
81. Park SH, Belcastro E, Hasan H, Matsushita K, Marchandot B, Abbas M, vd. Angiotensin II-induced upregulation of SGLT1 and 2 contributes to human microparticle-stimulated endothelial senescence and dysfunction: protective effect of gliflozins. *Cardiovasc Diabetol*. 2021;20(1):65.
82. Zhu X, Jiang R, Ying X, Li Z, Jiang P. The role of ferritin and iron dextran in exacerbating preeclampsia in an L-NAME-treated rat model. *Ann Transl Med*. 2022;10(16):889.
83. Bilanda DC, Dzeufiet PDD, Kouakep L, Aboubakar BFO, Tedong L, Kamtchouing P, vd. *Bidens pilosa* ethylene acetate extract can protect against L-NAME-induced hypertension on rats. *Bmc Complement Altern Med*. 2017;17(1):479.
84. Hamounpeima I, Hosseini M, Mohebbati R, Shafei MN. Effect of hydroalcoholic extract of *ribes khorasanicum* on acute hypertension induced by L-NAME in rat. *J Pharmacopuncture*. 2019;22(3):160-5.
85. Bugga P, Mohammed SA, Alam MJ, Katare P, Meghwani H, Maulik SK, vd. Empagliflozin prohibits high-fructose diet-induced cardiac dysfunction in rats via attenuation of mitochondria-driven oxidative stress. *Life Sci*. 2022;307:120862.
86. Rehman A, Leibowitz A, Yamamoto N, Rautureau Y, Paradis P, Schiffrin EL. Angiotensin type 2 receptor agonist compound 21 reduces vascular injury and myocardial fibrosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 2012;59(2):291-9.
87. Hrenák J, Arendášová K, Rajkovičová R, Aziriová S, Repová K, Krajčírovičová K, vd. Protective effect of captopril, olmesartan, melatonin and compound 21 on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Physiol Res*. 2013;62(Suppl 1):S181-9.
88. Pandey A, Gaikwad AB. AT2 receptor agonist compound 21: a silver lining for diabetic nephropathy. *Eur J Pharmacol*. 2017;815:251-7.

89. Trnovska J, Svoboda P, Pelantova H, Kuzma M, Kratochvilova H, Kasperova BJ, vd. Complex positive effects of SGLT-2 inhibitor empagliflozin in the liver, kidney and adipose tissue of hereditary hypertriglyceridemic rats: possible contribution of attenuation of cell senescence and oxidative stress. *Int J Mol Sci.* 2021;22(19):10606.
90. Saravanakumar M, Raja B, Manivannan J, Silambarasan T, Prahalathan P, Kumar S, vd. Oral administration of veratric acid, a constituent of vegetables and fruits, prevents cardiovascular remodelling in hypertensive rats: a functional evaluation. *British Journal of Nutrition.* 2015;114(9):1385-94.
91. Verdonk K, Durik M, Abd-Alla N, Batenburg WW, van den Bogaerdt AJ, van Veghel R, vd. Compound 21 induces vasorelaxation via an endothelium- and angiotensin II type 2 receptor-independent mechanism. *Hypertension.* 2012;60(3):722-9.
92. Gao J, Zucker IH, Gao L. Activation of central angiotensin type 2 receptors by compound 21 improves arterial baroreflex sensitivity in rats with heart failure. *Am J Hypertens.* 2014;27(10):1248-56.
93. Sampson AK, Irvine JC, Shihata WA, Dragoljevic D, Lumsden N, Huet O, vd. Compound 21, a selective agonist of angiotensin AT2 receptors, prevents endothelial inflammation and leukocyte adhesion in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol.* 2016;173(4):729-40.
94. Bruckert C, Matsushita K, Mroueh A, Amissi S, Auger C, Houngue U, vd. Empagliflozin prevents angiotensin II-induced hypertension related micro and macrovascular endothelial cell activation and diastolic dysfunction in rats despite persistent hypertension: role of endothelial SGLT1 and 2. *Vascular Pharmacology.* 2022;146:107095.
95. Herat LY, Matthews VB, Magno AL, Kiuchi MG, Carnagarin R, Schlaich MP. An evaluation of empagliflozin and it's applicability to hypertension as a therapeutic option. *Expert Opin Pharmacother.* 2020;21(10):1157-66.
96. Pechánová O, Bernátová I, Pelouch V, Babál P. L-NAME-induced protein remodeling and fibrosis in the rat heart. *Physiol Res.* 1999;48(5):353-62.
97. Lee J, Cho HS, Park S, Kim WK. Regular exercise produced cardioprotective effects on rat's heart with hypertension induced by L-NAME administration. *Clin Exp Hypertens.* 2009;31(4):364-75.

98. Kräker K, Herse F, Golic M, Reichhart N, Crespo-Garcia S, Strauß O, vd. Effects of empagliflozin and target-organ damage in a novel rodent model of heart failure induced by combined hypertension and diabetes. *Sci Rep.* 2020;10:14061.
99. Ermis N, Ulutas Z, Ozhan O, Yildiz A, Vardi N, Colak C, vd. Angiotensin II type 2 receptor agonist treatment of doxorubicin induced heart failure. *Biotech Histochem.* 2023;98(5):326-35.
100. Kaschina E, Namsolleck P, Unger T. AT2 receptors in cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol Res.* 2017;125(Pt A):39-47.
101. Chow BSM, Koulis C, Krishnaswamy P, Steckelings UM, Unger T, Cooper ME, vd. The angiotensin II type 2 receptor agonist compound 21 is protective in experimental diabetes-associated atherosclerosis. *Diabetologia.* 2016;59(8):1778-90.
102. Lange C, Sommerfeld M, Namsolleck P, Kintscher U, Unger T, Kaschina E. AT2R (angiotensin AT2 receptor) agonist, compound 21, prevents abdominal aortic aneurysm progression in the rat. *Hypertension.* 2018;72(3):e20-9.
103. Ndisang JF, Chibbar R. Heme oxygenase improves renal function by potentiating podocyte-associated proteins in *no*-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME)-induced hypertension. *Am J Hypertens.* 2015;28(7):930-42.
104. Corremans R, D'Haese PC, Vervaet BA, Verhulst A. L-NAME administration enhances diabetic kidney disease development in an STZ/NAD rat model. *Int J Mol Sci.* 2021;22(23):12767.
105. Castoldi G, di Gioia CRT, Bombardi C, Maestroni S, Carletti R, Steckelings UM, vd. Prevention of diabetic nephropathy by compound 21, selective agonist of angiotensin type 2 receptors, in Zucker diabetic fatty rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology.* 2014;307(10):F1123-31.
106. Gembardt F, Bartaun C, Jarzebska N, Mayoux E, Todorov VT, Hohenstein B, vd. The SGLT2 inhibitor empagliflozin ameliorates early features of diabetic nephropathy in BTBR ob/ob type 2 diabetic mice with and without hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2014;307(3):F317-25.
107. Pandey A, Gaikwad AB. Compound 21 and Telmisartan combination mitigates type 2 diabetic nephropathy through amelioration of caspase mediated apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;487(4):827-33.

108. Domon A, Katayama K, Sato T, Tochigi Y, Tazaki H, Suzuki H. Empagliflozin ameliorates symptoms of diabetes and renal tubular dysfunction in a rat model of diabetes with enlarged kidney (DEK). *Plos One*. 2021;16(5):e0251135.
109. Williams JM, Murphy SR, Wu W, Border JJ, Fan F, Roman RJ. Renoprotective effects of empagliflozin in type 1 and type 2 models of diabetic nephropathy superimposed with hypertension. *Geroscience*. 2022;44(6):2845-61.
110. Chen X, Delić D, Cao Y, Shen L, Shao Q, Zhang Z, vd. Renoprotective effects of empagliflozin are linked to activation of the tubuloglomerular feedback mechanism and blunting of the complement system. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2023;324(4):C951-62.
111. Kadhim LF, Gany SN, Qassam H, Hadi NR, Kadhim S. Potential nephroprotective effects of angiotensin II type 2 receptor agonist compound 21 in renal ischemia-reperfusion injury. *J Med Life*. 2023;16(9):1428-32.
112. Skrabic R, Kumric M, Vrdoljak J, Rusic D, Skrabic I, Vilovic M, vd. SGLT2 inhibitors in chronic kidney disease: from mechanisms to clinical practice. *Biomedicines*. 2022;10(10):2458.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş



EK-2. Etik Kurul Onayı

