

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

**NİTRİK OKSİT SENTAZ İNHİBİSYONU VE TUZ İLE
OLUŞTURULAN HİPERTANSİYONDA ROSUVASTATİN VE
AMLODİPİNİN KAN BASINCI, ASİMETRİK DİMETİL
ARGİNİN, ISI ŞOK PROTEİNİ 90, KAVEOLİN-1 DÜZEYLERİ
VE FENİLEFRİN, ASETİLKOLİN VE ANJİOTENSİN II
KATILIMINI İÇEREN VASKULER CEVAPLARA ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Elif ONAT**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Engin ŞAHNA**

**ELAZIĞ
2013**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Engin ŞAHNA

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Engin ŞAHNA

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Engin Şahna

Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER

Yrd. Doç. Dr. Selçuk İLHAN

TEŐEKKÖR

Tez danıőmanlıęını sabırla yűrűten, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaőan, tezimi hazırlarken yűn bulmama yardım eden hocam Sayın Prof. Dr. Engin ŐAHNA'ya, uzmanlık eęitimim sűresince bilgi ve becerilerimi kazanmamda bűyűk katkılarını gűrdűęűm Anabilim Dalı űęretim űyesi Sayın Doę.Dr. Mehmet Kaya ŐZER ve Yrd. Doę. Dr. Selęuk İLHAN'a, tezimin oluőumundaki katkılarından dolayı asistan arkadaőlarıma ve tűm Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı ęalıőanlarına teőekkűr ederim.

Ayrıca bugűnlere gelmemde bana her zaman her konuda destek olan eőime ve aileme sonsuz teőekkűrlerimi sunarım.

ÖZET

Hipertansiyon patofizyolojisinde oksidatif stres ve endotelial işlev bozukluğu önemli rol oynamaktadır. Statinlerin, kolesterol düşürücü etkileri ile birlikte reaktif oksijen üretimini azaltarak endotelial disfonksiyonu iyileştirdiği ve eNOS ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Çalışmamızda, hipertansif sıçanlarda rosuvastatinin kan basıncı, oksidatif stres ile artan NADPH oksidaz, rhokinaz, endojen NOS inhibitörü ADMA, eNOS aktivitesini inhibe eden kaveolin-1 ve aktive eden hsp90 düzeylerinin yanı sıra phe kasılma, ach gevşeme ve anjiotensin 2 cevapları üzerine etkilerinin araştırılması ve rosuvastatinin etkilerinin amlodipin ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Hipertansiyon oluşturmak için sıçanlara, intraperitoneal (i.p) yolla 6 hafta boyunca NOS inhibitörü L-NAME ve % 1 tuz içeren içme suyu verildi. 2.haftadan itibaren rosuvastatin (10 mg/kg/gün) ve amlodipin (10 mg/kg/gün) 4 hafta boyunca i.p olarak uygulandı. Kan basınçları 0, 14, 28 ve 42. günlerde tail-cuff yöntemiyle, deney sonunda NADPH oksidaz, rhokinaz, kaveolin-1 ve hsp90 aort dokusunda RT-PCR, ADMA serumda ELİSA ile ölçüldü.

Kan basınçları L-NAME ve tuz alan gruplarda kontrole göre 14, 28 ve 42. günlerde anlamlı olarak yükseldi. Amlodipin kan basıncını 28 ve 42. günlerde anlamlı olarak düşürürken, rosuvastatin 42.günde anlamlı olmayan bir azalma oluşturdu. Ach Ec50 değerleri hipertansif grupta yükseldi. Ach Emax değerleri hipertansif grupta düşük, tedavi alan gruplarda ise anlamlı olarak yüksek bulundu. Hipertansiyonun ADMA, NADPH oksidaz, rhokinaz ve kaveolin-1 düzeylerinde yaptığı anlamlı artışı, rosuvastatin ve amlodipinin ADMA dışında engellediği görüldü. Hipertansiyon grubunda kontrol grubuna göre hsp90 ekspresyon düzeyi anlamlı olmayan bir artış gösterdi. DMSO uygulaması gruplar arasında anlamlı farklılık oluşturmadı.

Sonuç olarak, rosuvastatinin kan basınçlarını amlodipin kadar düşürmediği ve Ach Emax değerlerinin birbirine yakın olduğu görüldü. Amlodipinin kan basıncı düşürücü etkilerine ADMA, NADPH oksidaz, rhokinaz, kaveolin-1 ve hsp90 düzeylerinin aracılık edebileceğini ve rosuvastatinin de endotelial disfonksiyon ve oksidatif stres ile ilişkili bu parametreleri amlodipine benzer şekilde etkileyebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hipertansiyon, Rosuvastatin, Amlodipin, Rhokinaz, Kaveolin-1, Hsp90, NADPH oksidaz, ADMA.

ABSTRACT

EFFECTS OF ROSUVASTATIN AND AMLODIPINE ON BLOOD PRESSURE, SERUM LEVELS OF ADMA, HSP 90, CAVEOLIN-1 AND VASCULAR RESPONSIVENESS INCLUDING BY PHENYLEPHRINE, ACETYLCHOLINE AND ANGIOTENSIN II IN HYPERTENSION INDUCED BY NOS INHIBITION AND HIGH SALT DIET

Oxidative stress and endothelial dysfunction play an important role in pathophysiology of hypertension. Statins which have cholesterol-lowering effects shown to increase the expression of eNOS and improve endothelial dysfunction by reducing the production of reactive oxygen. In our study is investigated to the effects of HMG-CoA reductase inhibitor rosuvastatin and the Ca channel blocker amlodipine on blood pressure, NADPH oxidase which is increased by oxidative stress, rhokinase, asymmetric dimethylarginine (ADMA) as an endogenous inhibitor of NOS, caveolin-1 which inhibit to eNOS activity and heat shock protein 90 (hsp90) levels in the hypertensive rats. Furthermore in this study, phenylephrine contraction, acetylcholine relaxation and angiotensin 2 responses in isolated thoracic aortic vessels were evaluated. The effects of rosuvastatin compared with amlodipine.

To form hypertension, L-NAME which is a nitric oxide inhibitor by intraperitoneally and drinking water containing 1% of salt was given to rats for 6 weeks. As from 2th week rats were applied intraperitoneally to 10 mg / kg / day rosuvastatin and to 10 mg / kg / day amlodipine for 4 weeks. Blood pressures were measured by the tail cuff method on 0, 14th, 28th and 42th days. NADPH oxidase, rhokinase, caveolin-1 and hsp90 levels of aortic tissue were measured by use of real-time PCR method and ADMA levels in serum were measured by ELISA.

Blood pressures were observed as significantly higher in the 14th, 28th and 42th days in groups taking L-NAME and the salt, as significantly lower in amlodipine treatment groups in the 28th and 42th days, and as non-significantly lower in the rosuvastatin group in 42th day. Ach EC50 values were higher in hypertensive group. Ach Emax values have been observed lower in hypertensive

group and significantly higher in the treatment groups. Levels of ADMA, NADPH oxidase, rhokinase and caveolin-1 significantly increased in hypertension group. Rosuvastatin and amlodipine significantly reduced these parameters but not ADMA. Level of hsp90 expression non-significant increased in hypertension group than the control group. DMSO application didn't constitute significant difference between groups.

As a result rosuvastatin did not reduce blood pressure compared to amlodipine. But it has been observed that Ach Emax value was similar to amlodipine. Rhokinase, caveolin-1, hsp90, NADPH oxidase and ADMA levels might be mediated to blood pressure lowering effects of amlodipine. Rosuvastatin also similar to amlodipine may affect these parameters which associated with endothelial dysfunction and oxidative stress.

Key words: Hypertension, Rosuvastatin, Amlodipine, Rhokinase, Caveolin-1, Hsp90, NADPH oxidase, ADMA

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	14
1.1. Kan basıncını Belirleyen Faktörler ve Esansiyel Hipertansiyon	16
1.1.1. Hemodinamik değişiklikler	17
1.1.1.1. Kardiyak değişiklikler	17
1.1.1.2. Periferik arter değişiklikleri	17
1.1.2. Vazoaktif peptidler	17
1.1.3. Prostaglandinler	17
1.1.4. Endotelin	17
1.1.5. Obezite	18
1.1.6. Genetik Etkenler	18
1.1.7. Sigara	18
1.1.8. Alkol	18
1.1.9. Fiziksel inaktivite	19
1.1.10. Sempatik sinir sistemi aktivasyonu	19
1.1.11. Renin angiotensin aldosteron sistemi	19
1.1.12. Renal Kaynaklı Sodyum ve Su Retansiyonu	20
1.1.12.1. Natriüretik Hormon	20
1.1.12.2. Vazopressin	21
1.1.13. Aşırı Tuz Alımı	21
1.1.14. Endotel disfonksiyonu	21
1.1.14.1. Nitrik Oksit	22
1.1.14.2. Endotelyal Nitrik Oksit sentaz	23

1.1.14.3. Rhokinaz	25
1.1.14.4. Kaveolin-1	27
1.1.14.5. Isı Şok Proteini 90 (Hsp90)	29
1.1.14.6. NADPH oksidaz	30
1.1.14.7. ADMA (Asimetrik dimetilarginin)	31
1.2. Deneysel Hipertansiyon Modelleri	34
1.2.1. Genetik Uyarı ile Oluşan Hipertansiyon	34
1.2.2. Çevresel Uyarı ile Oluşan Hipertansiyon	34
1.2.3. Farmakolojik Uyarı ile Oluşan Hipertansiyon	35
1.2.4. Renal Uyarı ile Oluşan Hipertansiyon	35
1.3. NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyon	35
1.4. Rosuvastatin, Amlodipin	37
1.4.1. Rosuvastatin	37
1.4.2. Amlodipin	39
1.5. Çalışmanın Gerekçesi ve Amacı	43
2. GEREÇ VE YÖNTEM	45
2.1. Denekler	45
2.2. Deney protokolü	45
2.2.1. Kan basıncı ölçümleri	46
2.2.2. Cerrahi uygulamalar	46
2.2.3. İn vitro deneyler	46
2.2.3.1. Fenilefrin (phe) kasılma cevapları	47
2.2.3.2. Asetilkolin (ach) gevşeme cevapları	47
2.2.3.3. AT2 reseptör rolü	
2.2.4. Genetik analizler	47
2.2.4.1. RNA İzolasyonu	48
2.2.4.2. RNA Konsantrasyonunun Hesaplanması	48
2.2.4.3. cDNA Sentezi	48
2.2.4.4. Real Time-PCR	48
2.2.5. Serum ADMA Düzeyleri	49
<u>2.3. İstatistiksel Analiz</u>	49
2.4. Kullanılan Kimyasallar	49

3. BULGULAR	50
3.1. Kan basınçları	50
3.1.1. L-NAME ve tuz uygulamasının sistolik kan basıncı üzerine etkisi	51
3.1.2. Rosuvastatin'in etkisi	51
3.1.3. Amlodipin'in etkisi	51
3.2. Torasik aortada kasılma-gevşeme cevapları	51
3.2.1. Fenilefrin kasılma cevapları	51
3.2.2. Asetilkolin gevşeme cevapları	53
3.2.3. Phe önkasılması sonrası anjiotensin II cevapları	
3.2.4. Losartanlı ortamda phe önkasılması sonrası anjiotensin II'nin meydana getirdiği doz cevap eğrisi	
3.2.5. Losartan ve PD123319'lu ortamda phe önkasılması sonrası anjiotensin II doz cevap eğrisi	
3.3. Aortik dokularda gen ekspresyon çalışmaları	58
3.4. Serum ADMA düzeyleri	62
4. TARTIŞMA	64
5. KAYNAKLAR	71
6. ÖZGEÇMİŞ	87

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. 0, 14, 28 ve 42.günlerde kan basıncı değerleri	50
Tablo 2. Fenilefrin kasılma cevapları	52
Tablo 3. Asetilkolin gevşeme cevapları	53
Tablo 4. Ach gevşeme cevapları Emax ve Ec50 değerleri	55
Tablo 5. Rhokinaz ekspresyon düzeyleri	58
Tablo 6. Kaveolin-1 ekspresyon düzeyleri	59
Tablo 7. Hsp90 ekspresyon düzeyleri	60
Tablo 8. NADPH oksidaz ekspresyon düzeyleri	61
Tablo 9. Serum ADMA düzeyleri	

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Deney grupları ve ilaç uygulamaları	46
Şekil 2.	0, 14, 28 ve 42. günlerde kan basıncı değişimleri	50
Şekil 3.	Fenilefrin doz cevap eğrisi	52
Şekil 4.	Asetilkolin gevşeme cevapları	54
Şekil 5.	Ach Ec50 değerleri	55
Şekil 6.	Ach gevşeme cevapları Emax değerleri	56
Şekil 7.	Phe ön kasılması sonrası anjiotensin II doz cevap eğrisi	
Şekil 8.	Losartanlı ortamda phe önkasılması sonrası anjiotensin II doz cevap eğrisi	
Şekil 9.	Losartan ve PD123319 varlığında phe ön kasılması sonrası AngII doz cevap eğrisi	
Şekil 10.	Aort dokusunda Rhokinaz ekspresyon düzeyleri	59
Şekil 11.	Aort dokusunda Kaveolin-1 ekspresyon düzeyleri	60
Şekil 12.	Aort dokusunda Hsp90 ekspresyon düzeyleri	61
Şekil 13.	Aort dokusunda NADPH oksidaz ekspresyon düzeyleri	62
Şekil 14.	Serum ADMA düzeyleri	63

KISALTMALAR LİSTESİ

2B1K	: 2 böbrek 1 klemp
ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ADMA	: Asimetrik dimetil arginin
Ang II	: Anjiotensin 2
AT1	: Anjiotensin tip 1 reseptör
AT2	: Anjiotensin tip 2 reseptör
AVP	: Arginin Vazopressin
BH₄	: Tetrahidrobiopterin
Ca²⁺	: Kalsiyum
CaMK	: Kalsiyum/Kalmodulin kinaz
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
DDAH	: Dimetil arginin aminohidrolaz
DOCA	: Deoksikortikositeron Asetat
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
FAD	: Flavin adenin dinükleotid
FMN	: Flavin mono nükleotid
GGPP	: Geranilgeranilpirofosfat
GFH	: Glomerül filtrasyon hızı
Hsp90	: Isı şok proteini 90
HT	: Hipertansiyon
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
L-NAME	: N ⁰ -Nitro-L-Arjinin Metil Ester
L-NMMA	: N ⁰ -Monometil-L-Arjinin
LOX-1	: Lektin benzeri okside düşük dansiteli lipoprotein reseptör -1
L-VDCC	: L-tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanalı
MCP	: Monosit kemoatraktan protein
MLCP	: Myozin hafif zincir fosfataz
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	: Nitrik Oksit

NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NOX	: Nitrit/Nitrat
PKA	: Protein kinaz A
PKC	: Protein kinaz C
PDK-1	: Pirüvat dehidrogenaz kinaz-1
RAAS	: Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SHR	: Spontan Hipertansif Rat
SMDA	: Simetrik dimetil arginin
SR-B1	: Scavenger receptor class B1
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

1. GİRİŞ

Esansiyel hipertansiyon, kardiovasküler sistemi olumsuz olarak etkileyebilen bir hastalıktır (1-2). Diabetes mellitus, dislipidemi, sigara ve obesiteyi içeren diğer nedenlerle birlikte hipertansiyon, kardiovasküler morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde etkiler (3). Kan basıncını düşürücü tedavinin, bu risklere sahip hastalarda kardiovasküler olayları azaltabildiği gösterilmiştir.

Hipertansiyon, sistemik arteriyal kan basıncının devamlı yükselmesi ile kendini gösteren bir kalp-damar hastalığıdır. Hipertansiyon zamanla kalpte ve arterlerde geri dönüşsüz (irreversibl) değişiklikler yaparak ciddi kardiovasküler komplikasyonlara yol açması (akut myokard infaktüsü, diğer koroner hastalıkları, sol ventrikül hipertrofisi, konjestif kalp yetmezliği, inme, progressif böbrek yetmezliği, retinopati, dissekan aort anevrizması vb. gibi) ve görece sık görülmesi nedeniyle önemli bir sağlık sorunudur.

Hipertansiyon esansiyel (primer) ve sekonder olmak üzere ikiye ayrılır. Asıl nedeni belli olmayan esansiyel hipertansiyon, vakaların yaklaşık olarak % 95'ini oluşturur. Geriye kalan % 5 olgu ise; böbrek hastalıkları ilk sırada olmakla birlikte, renovasküler hastalıklar ve bir takım endokrin rahatsızlıklar gibi kan basıncının yükseldiği bilinen patolojik bozukluklarla ilişkidir (4).

Çok sayıda çalışma sempatik sinir sistemi ve renin anjiotensin aldosteron sistemindeki fonksiyonel değişikliklerin ve damarlardaki diğer vasoaktif mediyatörlerin esansiyel hipertansiyonun patofizyolojisinde önemli rol oynadığını göstermiştir. Endokrin faktörler, nöral refleksler ve damarsal patolojilerin esansiyel hipertansiyon gelişiminde etkili olabileceği gösterilmiştir. Bunlar, L-tipi kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyum akımını arttırarak vasküler tonusda artışa neden olurlar. Bu kanalların, RhoA/Rhokinaz yolağı aracılığıyla kalsiyum sensitizasyonunda eksitasyon-kontraksiyon eşleşmesinde önemli rolü vardır.

Endotelial disfonksiyon, hipertansiyonda aterosklerotik hastalık açıkça ortaya çıkmadan çok önce belirmiş olan bir major erken patolojik değişikliktir (5). Bu, endotelde NO üretiminin azalmasıyla veya süperoksit anyonlarının aşırı üretimiyle alakalı olabilir.

Hipertansif kan damarlarında, rhokinaz fonksiyonel ve yapısal değişiklikler gösterir. SHR'ların kan damarlarında rhokinazın mRNA ekspresyon ve aktivitesi, normotansif ratlara göre önemli ölçüde daha fazladır (6). Rhokinazın uzun süre bloke edilmesi sonucunda, SHR'larda medial hipertrofi ve perivasküler fibrosis gibi vasküler lezyon oluşumlarında azalma görülür (6).

Kaveolin-1'in transitoza aracılık etmek, sinyal proteinlerini düzenlemek ve eNOS gibi enzimleri aktiflemek gibi değişik fizyolojik rolleri vardır (7). Kaveolin-1'in Akt, CaMK, PKA, PKC ve hsp90 gibi diğer sinyal molekülleri ile uyumlu olarak eNOS aktivasyonunu düzenlediği gösterilmiştir (8). eNOS dış uyarı ile kaveolin-1'den ayrıldıktan sonra, kalsiyum/kalmodulin veya hsp90 ile birleşir, eNOS aktive edilmiş olur ve NO üretimi artar (8). Kaveolin-1 ile eNOS'un bağlanması eNOS aktivasyonunu ve NO üretimini inhibe eder (9). Hipertansiyonda kaveolin-1 ekspresyonunun endotel hücreleri ve damar düz kas hücrelerinde artmış olduğu belirlenmiştir (10).

Isı şok proteini 90 eNOS'u aktive eden önemli bir proteindir. Ökaryotik hücrelerde en çok bulunan sitozolik proteinlerden biridir. Sinyal iletimi, hücre siklus kontrolü, transkripsiyonel düzenleme, proteinlerin maturasyonu, katlanması ve aktivasyonunda önemli rol oynar (11). Endotel hücreleri herhangi bir uyarı almadıkları zaman hsp90 ve eNOS arasındaki iletişim az iken, bu hücrelerin Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF) veya histamin gibi bir faktör tarafından uyarılması sonucunda iki protein arasındaki etkileşim artar. Hsp90'ın eNOS ile etkileşimi eNOS aktivitesini artırır (12) ve sonuçta NO üretimi de artar (13).

Oksidatif stres durumunda, bir arginin metaboliti olan ADMA (asimetrik dimetil-L-arginin) artmış miktarlarda plazma ve hücrelerde oluşur. ADMA, NO sentezinin endojen bir inhibitörüdür (14). ADMA, L-arginin yerine NOS'a bağlanarak eNOS'u inhibe eder. Düşük serum NO'nin neden olduğu endotelial disfonksiyon ile kardiovasküler risk faktörleri arasında ilişki vardır (8). Endotel disfonksiyonlu hastalarda ADMA'nın artmış olmasından dolayı, kardiovasküler hastalıklar için yeni bir biomarker olarak ADMA önerilmektedir (15). ADMA ile esansiyel hipertansiyon arasındaki ilişki kısmen anlaşılmıştır. Plazma ADMA seviyelerinin, özellikle tuza duyarlı olan kişilerden ve normotansif sağlıklı bireylerden ziyade hipertansif kişilerde daha yüksek olduğu bulunmuştur (16).

NADPH oksidaz, vaskuler sistemde ROS'un ana kaynağıdır (17). Anjiotensin II'nin NADPH oksidazın aktivitesini arttırması sonucunda renin anjiotensin sistemi uyarılır. Bu durum vaskuler O₂⁻ üretiminde artışa ve vaskuler disfonksiyona sebep olabilir (18).

Rosuvastatin NADPH oksidazı azaltarak, eNOS ayrılmasını suprese, antioksidan enzimatik savunma mekanizmalarını upregüle ederek ve hidrojen peroksitin aracı olduğu DNA hasarını inhibe ederek oksidatif stresi azaltır (19).

Hipertansiyon patofizyolojisinde oksidatif stres ve endotelyal işlev bozukluğunun önemli rol oynadığı görülmektedir. Rosuvastatin HDL'yi arttırıp, LDL ve trigliserit seviyelerini düşürerek dislipidemi tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir sentetik hidrofilik statindir. Statinlerin kolesterol düşürücü özelliklerine ek olarak antiinflamatuvar, antiproliferatif, antitrombotik, antiaterojenik ve antihipertansif etkileri olduğu rapor edilmiştir (5). Reaktif oksijen üretimini azaltarak endotelyal disfonksiyonu iyileştirdiği ve eNOS ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Vaskuler disfonksiyonun önlenmesinde, ROS'ların oluşturduğu oksidatif stres ve inflamasyonda rosuvastatinin yararlı etkileri bilinmektedir. Çalışmamızda hipertansif sıçanlarda rosuvastatinin kan basıncı, oksidatif stres ile artan NADPH oksidaz, rhokinaz, endojen NOS inhibitörü ADMA, eNOS aktivitesini inhibe eden kaveolin-1 ve aktive eden hsp90 düzeylerinin yanı sıra phe kasılma, ach gevşeme ve anjiotensin 2 cevaplarının araştırılması ve rosuvastatinin etkilerinin, klinikte antihipertansif amaçla yaygın kullanım alanı olan ve endotel üzerine koruyucu etkileri olduğu bildirilen bir ca kanal blokörü olan amlodipin ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

1.1. Kan basıncını Belirleyen Faktörler ve Esansiyel Hipertansiyon

İlerleyici seyir gösteren ve birçok faktöre bağlı olduğu düşünülen esansiyel (primer) hipertansiyonun oluşum mekanizmaları henüz netlik kazanmamıştır. Hipertansiyon oluşumunun temelinde oksidatif stresin artması, baroreseptör sensitivitesinin değişmesi, dokularda sempatik etkinliğin artışı, renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonundaki anormallikler ve böbreklerde sodyum tutulumunun artması gibi etkenlerin olabileceği düşünülmektedir.

Esansiyel hipertansiyon uzun yıllar semptomsuz ve komplikasyonsuz olarak seyreder. Bu sırada hastalığın tek göstergesi diyastolik ve/veya sistolik kan

basıncının yükselmiş olmasıdır. Uzun süren kan basıncı yüksekliğinin uç-organların arterleri, diğer yapılar ve myokard üzerindeki zararlı etkilerine bağlı olarak yukarıda sayılan ciddi komplikasyonlar ortaya çıkmaya başlar (4) .

Esansiyel hipertansiyonda kan basıncının yükselmesi total periferik damar rezistansının artmasına bağlıdır. Ancak az sayıdaki olguda, kalp debisi veya dolaşan kan hacmi de yükselmiş olabilir. Esansiyel hipertansiyonun patogenezinde heredite olguların yarıya yakın bir bölümünde rol oynar (4).

1.1.1. Hemodinamik değişiklikler

1.1.1.1. Kardiyak değişiklikler

Kan basıncı yüksek ve dolaşımdaki kan akımı hızlı olan bazı kişilerde kalp debisinin artmış olduğu gözlenmiştir. Kalp debisindeki artış hipertansiyon oluşumunun başlangıcında etkilidir ancak hipertansiyon tam olarak geliştikten sonra kalp debisinde artış görülmemektedir (20).

1.1.1.2. Periferik arter değişiklikleri

Periferik arter rezistansındaki artış, çapı 1mm'nin altında olan distal arteriollerde görülür. Kan basıncı yüksek kişilerin cilt altı yağ dokularındaki küçük direnç damarlarında, kan basıncı normal olan kişilere göre media kalınlığı/iç çap oranında %26-62 arasında artışlar saptanmıştır (20).

1.1.2. Vazoaktif peptidler

Natriüretik peptid, vazopressin, serotonin, dopamin, kallikrein, kinin, nöropeptid Y, opioid peptidler, adrenomedullin ve medullipinin esansiyel hipertansiyon gelişiminde etkili olduğu düşünülmektedir (20).

1.1.3. Prostaglandinler

Prostaglandinler kan basıncını arttırıcı ya da azaltıcı şekilde çeşitli etkiler gösterirler. Tromboksan A2 vazokonstriksiyon yaparken, Prostaglandin I2 vazodilatasyon meydana getirir. Prostaglandin E ise vasküler tonus, sodyum dengesi ve renin salınımını inhibe ederek kan basıncı üzerine önemli etkiler gösterir (21).

1.1.4. Endotelin

Endotel hücrelerinden salgılanan ve düz kas hücrelerine ETA üzerinden etki ederek vazokonstriksiyona neden olan bir peptiddir. Bunun yanında, endotelin ETB reseptörüne bağlanarak prostasiklin ve NO üretimi yoluyla vazodilatasyonda yapabilir. Ciddi hipertansiyon oluşturulan hayvan modellerinde küçük damarların endotelinde endotelin üretiminin artmış bulunması, hipertansiyon patogenezinde endotelinin rolünü desteklemektedir. Endotelin üretimindeki artış, kan basıncı yükselmesinin yanında hipertansif kişilerde küçük damarlarda hipertrofik yeniden şekillenmenin oluşumundan da sorumlu tutulmaktadır (22).

1.1.5. Obezite

Obezite sonucunda sempatik sinir sistemi ve RAAS'nin aktivasyonu, plazma hacminin artışı ve hiperinsülinemi oluşumundan kaynaklanan kan basıncında artış meydana gelir.

1.1.6. Genetik Etkenler

Renin anjiyotensin sisteminin bileşenlerini ilgilendiren genlerin hipertansiyon gelişimi ile en fazla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bunlar anjiyotensinojen, anjiyotensin dönüştürücü enzim, anjiyotensin II tip 1 reseptörü ve beta-2 adrenerjik reseptördür. Bu genetik bozukluklar sonucunda ortak olan durum, artmış tuz ve su tutulumu ile sonuçlanan genetik geçişli bir renal fonksiyon bozukluğunun olmasıdır (23).

1.1.7. Sigara

Nikotin nikotinik reseptörlere etki ederek, adrenerjik sinir uçlarından noradrenalin salınmasına neden olur. Sigara insülin direnci, endotel bağımlı gevşemede azalma ve endotelin seviyelerinde artışa yol açarak kan basıncında yükselmeye sebep olur (20).

1.1.8. Alkol

Alkol az miktarlarda alınmış olmasına rağmen, kronik tüketimi sonucunda kan basıncında yükselmeye neden olur. Alkol renin anjiyotensin aldosteron sistemini ve sempatik sinir sistemini uyarıp, plazma kortizon düzeyini arttırarak kan basıncında yükselmeye neden olur (20).

1.1.9. Fiziksel inaktivite

Düzenli egzersiz yapan kişilerde, hipertansiyon ve buna bağlı rahatsızlıklar daha nadir görülmektedir. Yüksek kan basıncına sahip kişiler, düzenli spor yapmaya başladıklarında ise kan basınçlarında azalma gözlenmiştir.

1.1.10. Sempatik sinir sistemi aktivasyonu

Sempatik sinir sistemindeki aktivite artışı, hem hipertansiflerde, hem de normotansif kişilerde kalp, böbrekler ve periferik damarlar üzerindeki etkileri yoluyla kalp debisi ve damar direncini arttırarak ve sıvı retansiyonuna neden olarak kan basıncında yükselmelere yol açar. Sempatik sinir sisteminin uyarılması sonucunda kalp hızında artış, periferik vazokonstriksiyon, adrenallerden norepinefrin salınımı ve kan basıncında artış gerçekleşir. Ayrıca damar düz kas hücresinde hipertrofi ve buna bağlı sertlik (kompliyans azalması) gelişmesine yol açar. Sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile renal efferent sempatik lifler de uyarılır, böylece renal kan akımında düşme ve renal vasküler dirençte artmayla sonuçlanan vazokonstriksiyona neden olur. Renal sempatik uyarılma doğrudan sodyum reabsorpsiyonu ve jukstaglomerüler aparatın renin salınımını uyarır. Sempatik sinir sisteminin kan basıncının geçici ve kısa süreli kontrolünde önemli olduğu belirtilmiştir (24).

1.1.11. Renin angiotensin aldosteron sistemi

Renin anjiotensin aldosteron sistemi (RAAS) hem hipertansif, hem de normotansiflerde dolaşan kan hacmini ve kan basıncını düzenleyen en önemli mekanizmalardan biridir. Renin böbrekte jukstaglomerüler hücrelerden salınır ve karaciğerden plazmaya verilen anjiyotensinojenin anjiyotensin-I'e çevrilmesi reaksiyonunu katalize eder. Bu da anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından anjiyotensin-II'ye yıkılır. RAAS'nin fizyolojik ve patolojik etkileri anjiyotensin-II (A-II) üzerinden gerçekleşir (24). AII'nin AT1 ve AT2 olmak üzere 2 tip reseptörü vardır ve etkilerinin çoğu AT1 üzerinden olur. AII'nin AT1 reseptörüne bağlanmasıyla periferik damarlarda vazokonstriksiyon, aldosteron sentez ve salınımı, renal tübüler sodyum gerialımı, sempatik sinir sistemi aktivitesi ve vasopressin salınımı uyarılır, negatif geri besleme ile renin salınımı inhibe olur. Ayrıca AII, güçlü bir büyüme faktörü ve mitojen olup hücre ve matriks çoğalmasını uyarır. Kan

basıncında yükselme olduğunda negatif geri besleme yoluyla jukstaglomerüler hücrelerden renin salgısı azalır. Bu nedenle esansiyel hipertansiyonu olanlarda bu inhibisyona bağlı olarak plazma renin düzeyinin düşük olması beklenir. Ancak hipertansiflerde plazma renin düzeyleri homojen olmayıp kan basıncı düzeyi ile orantılı değildir. Sadece %30'unda renin düzeyi düşük olup %50'sinde normal, %20'sinde ise yüksektir. Hipertansif hastalarda plazma renin düzeylerinin uygunsuz bir şekilde normal veya yüksek olmasını açıklayacak başlıca 2 mekanizma öne sürülmüştür.

Bunlardan birincisi, nefron heterojenitesidir (24). İskemik nefronlardan salınan renin plazma düzeyini farklı seviyelerde arttırarak, normal ya da yüksek plazma renin düzeylerine neden olur. İskemik nefronlardan salınan aşırı renin dolaşıma geçerek A-II oluşumuna yol açar. Sonuçta, hiperfiltrasyon yapan nefronlarda aşırı vazokonstriksiyon ve sodyum tutulumu gerçekleşerek hipertansiyon gelişir. Plazma renin düzeyinin hipertansiflerde normal olmasının diğer bir nedeni, bu esansiyel hipertansifler arasında önemli bir oranda non-modülatör kişiler olmasıdır (25). Yani bu kişilerde sodyum kısıtlamasına yanıt olarak aldosteron salgılanması uyarılmaz. Ayrıca rezistans damarların AII'ye olan duyarlılığında artış meydana geldiği ve renin ve AII'nin düşük serum düzeylerinde bile kan basıncının yükselebileceği öne sürülmüştür. Dolaşan kandaki RAAS'den ayrı olarak kalpte, kan damarlarında, beyinde ve adrenal kortekste lokal anjiyotensin II üretimiyle sonuçlanan doku RAAS de tanımlanmıştır. Özellikle patolojik olaylarda lokal AII üretimi, ACE aktivitesinden bağımsız olarak alternatif yollarla oluşabilmektedir. Kalpte ve kan damarlarında AII oluşumundan serin proteaz kimaz aktivitesi sorumlu tutulmaktadır. RAAS'nin bu dokularda da aktivitesini sürdürmesi, kardiovasküler hastalıkların patogenezinde bilinenden daha yaygın bir rol aldığını düşündürmektedir (24).

1.1.12. Renal Kaynaklı Sodyum ve Su Retansiyonu

1.1.12.1. Natriüretik Hormon

Natriüretik hormon periferdeki damarlarda gevşeme oluşturarak kan basıncını düşürücü etki gösterir. Atriyumların hacimlerindeki genişlemeye cevap olarak sentezlenir. Glomerül filtrasyon hızında (GFH) artış oluşturarak, sodyum atılımında

artış meydana getirir. Afferent arteriyollerde genişleme, efferent arteriyollerde ise daralma oluşturur. Norepinefrin, AII, AVP gibi ajanlar tarafından daraltılmış olan damarlarda gevşeme yapar. Renin ve aldosteron hormon salınımını inhibe eder (20).

1.1.12.2. Vazopressin

Arka hipofizdeki sinir uçlarından salgılanan bir nonapeptit olan vazopressin, plazma ozmolaritesindeki artışa cevap olarak sodyum ve su tutulmasına neden olur.

1.1.13. Aşırı Tuz Alımı

Sodyum alımının ve su tutulumunun artması kalp debisinin artışına yol açar, ayrıca renal fonksiyonları ve vasküler reaktiviteyi değiştirerek hipertansiyona neden olabilir. Yüksek dozda sodyum tüketenlerin hepsinde hipertansiyon gelişmemekte ancak eş zamanlı olarak renal sodyum atılımında bir bozukluk olanlarda zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır. Yani sodyum alımının artması, hipertansiyon gelişiminde gerekli fakat tek başına yeterli olmayan bir faktördür. Sodyumun klorlu tuzunun (NaCl) hipertansiyona neden olduğu, ancak sodyum bikarbonat veya askorbatın ise böyle bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Sodyum içeriğine ek olarak düşük potasyum düzeyi sodyum fazlalığından gelen zararlı etkiyi arttırmaktadır. Sağlıklı bireylerde kan basıncı artışına bağlı olarak böbreklerden sodyum ve su atılımı artar, sıvı hacmi azalır ve basınç normal düzeye döner (basınç natriürezisi). Bu mekanizmada oluşabilecek bozulmanın, kan basıncında artışla sonuçlanabileceği tahmin edilmektedir. İlave olarak artmış sodyum düzeyi kan basıncını, damarsal etkinliği bozma yoluyla da arttırabilir. Fazla sodyumun kan basıncını arttırıcı etkisinden başka zararlı etkileri üzerinde de durulmaktadır. Bunlar kan basıncı yükseltici etkisinden bağımsız olarak inme riskini arttırması, sol ventrikül hipertrofisine yol açması ve hiperfiltrasyona bağlı renal fonksiyonların bozulmasıdır (22).

1.1.14. Endotel disfonksiyonu

Endotel hücreleri damar duvarındaki düz kas hücreleri üzerinde vazoaaktif dilatasyon ve kontraksiyon yapan birçok lokal parakrin etkili madde salgılayarak hipertansiyon patogenezinde aktif rol alır. Bunların içinde en güçlüleri nitrik oksit (NO) ve endotelindir. Endotel fonksiyon bozukluğunda salınan vazodilatatör ile vazokonstriktör faktörler arasındaki denge değişmiştir. Esansiyel hipertansiyonda

endotele bağılı vazodilatasyon cevabının bozulması ve vazokonstriktörlere olan hassasiyetin artması periferik damar direncini arttırabilmektedir. Endotel disfonksiyonun gelişiminde önemli olan oksidatif stres birçok parametrenin artmasına ya da azalmasına neden olabilir.

1.1.14.1. Nitrik Oksit

Endotelden salınan EDRF olarak da bilinen nitrik oksit (NO), 1980’de Robert Furchgott ve John Zawadski tarafından ilk keşfedilmiştir (26).

Nitrik oksit uyarılabilir NOS (iNOS), nöronal NOS (nNOS) ve endotelial NOS (eNOS) gibi üç tip nitrik oksit sentaz tarafından üretilen serbest radikal olan lipofilik bir gazdır (27).

Nitrik oksitin damarlarda antiinflamatuvar, antiplatelet, antiproliferatif ve antimigratuvar özellikleri vardır. NO Ca^{2+} /kalmodulin, FMN, FAD ve BH_4 gibi substrat ve kofaktörlerin varlığında aktive olan NADPH bağımlı bir enzim olan eNOS tarafından L-argininin L-sitruiline dönüşümü esnasında endotelden üretilir (28). Vasküler endotelial disfonksiyon, oksidatif stresteki artıştan dolayı damarda NO bioyararlanımı ve üretimindeki azalma sonucunda endotel bağımlı gevşemedeki bozulma ile karakterizedir. Bu durum, vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon olayları arasındaki dengenin kısmen veya tamamen kaybına yol açar (29). Vasküler endotelial disfonksiyon ateroskleroz, kalp yetersizliği, angina pectoris ve myokard infarktüsü gibi çeşitli kardiovasküler hastalıkların patogenezinde anahtar role sahiptir (30). VED sırasında damarlardaki NO bioyararlanımı ve üretimindeki düşüş, eNOS ekspresyonundaki azalma, eNOS için uygun kofaktörlerdeki eksiklik, eNOS inaktivasyonu ve ROS tarafından NO bozulmasındaki artıştan kaynaklanır (31). Bu yüzden, eNOS kardiovasküler hastalıkların düzenlenmesinde önemli rol oynar.

Çeşitli çalışmalar kardiovasküler fiziyojinin fonksiyonel düzenlenmesinde ve kardiovasküler patofiziyojinin önlenmesinde eNOS’un etkisini göstermiştir. eNOS tarafından üretilen NO, kan basıncının düzenlenmesinde önemlidir. Vasküler eNOS ekspresyon ve aktivasyonundaki defekt hipertansiyonla sonuçlanır (32).

Nitrik oksitin azalmış bioyararlanımı, vasküler hastalıklarla ilişkili en önemli faktörlerden biridir. Bunun endotelial disfonksiyonun bir sebebimi yoksa sonucumu olduğu açık değildir. Bir takım faktörler, NO’in hücrel hedeflere ulaşması veya diffüze olmasını etkiler. NOS fonksiyonlarının önemli bir özelliği, substrat ve

kofaktörlerin uygunluğudur. İn vivo ve in vitro çalışmalar, L-argininin NO üretimini etkileyebildiğini gösterir. L-arginin hiperkolesterolemik insanlarda, asetilkoline cevap olarak endotel bağımlı vazodilatasyondaki bozulmayı kısmen tersine çevirir. L-argininden NO sentezi, çeşitli arginin analogları tarafından farmakolojik olarak bloke edilebilir. Kardiovasküler sistemde NOS inhibitörleri vazokonstriksiyon, trombüs oluşumu ve atherogeneze neden olabilir. L-NMMA ve ADMA plazmada doğal olarak bulunan NOS inhibitörleridir (33). ADMA düzeyleri dinamik bir süreç tarafından düzenlenir. ADMA arginin metilasyonu ile sentez edilir, proteoliz ile salınır, DDAH-1 ve 2 enzimleri aracılığıyla sitruline metabolize edilir. DDAH-1'in fonksiyonel mutasyonu, kardiovasküler hastalıklar ve hipertansiyon gelişimi için risk taşır (34). Artmış plazma ADMA seviyeleri, hiperkolesterolemi ve hipertansiyonu içeren vasküler hastalıkların bir kısmında tanımlanmıştır ve akut koroner olay riski açısından güçlü bir belirteçtir (27).

Nitrik oksit normal kan basıncının sürdürülmesinde önemlidir. Bu yüzden, NO'nun esansiyel hipertansiyondaki rolü yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Hipertansif kişilerde NO'nun aracı olduğu vazodilatasyonda bozulma görülmüştür (27). Bunun azalmış NO sentezi ya da artmış NO tüketiminden dolayı olup olmadığı hale netlik kazanmamıştır. Arterial hipertansiyonlu hastalarda kan akımına cevap olarak organik nitratların infüzyonu normotansiflere kıyasla bozulmuştur (35). NO üretimi SHR'larda normaldir ancak O_2^- üretimi artmıştır. Bu durum NO'nun oksidasyonunda artışa yol açarak vazodilatasyon cevaplarının azalmasına yol açar (36). O_2^- hipertansiyonda upregüle olan NADPH oksidaz ve siklooksijenaz gibi çeşitli enzimlerden kaynaklanabilir (29). Esansiyel hipertansiyon azalmış endotel bağımlı gevşeme ile ilişkilidir. NO fonksiyonu, O_2^- gibi radikaller tarafından NO'nun modifikasyonu veya bozulmasıyla düzenlenir.

Endotelyal nitrik oksit sentaz ve NO üretimindeki azalma, hipertansiyondaki endotelyal disfonksiyon ile ilişkilidir. Tersine NO üretimi ve eNOS ekspresyonundaki artışlar, tedavi edilmekte olan farelerdeki kan basıncındaki düşüşle ilişkilidir (37).

1.1.14.2. Endotelyal Nitrik Oksit sentaz

Endotelyal nitrik oksit sentaz ekspresyonu ateroskleroz, diabet ve hipertansiyon gibi kardiovasküler sistemi ilgilendiren birçok hastalıkta değişir (27).

Endotelyal NO üretimini ve onun fizyolojik etkisini substrat ve kofaktörlerin uygunluğu, NO temizleyicilerinin varlığı gibi birçok değişken belirler. eNOS düzenlenmesinde subsellüler alan da etkilidir. eNOS çoğunlukla plazma membranında kaveolae için hedeflidir. eNOS'un plazma membranında aktivitesi golgi, sitoskeletal ve aktin ile ilişkili formlarına kıyasla en yüksektir (38). Çok yönlü eNOS fosforilasyonu ile endotelyal NO sentezinin düzenlenmesi humoral, mekanik ve farmakolojik uyarıların geniş bir çeşidine cevap olarak oluşur. Bu düzenleme Ca akımı ve protein-protein etkileşimi gibi eNOS düzenlenmesinin diğer yönleriyle etkileşimlerdeki gibi çok sayıda kinaz ve fosfatazları içerir. Okside LDL endotelyal hücre CD36 reseptörlerine bağlanarak ve kaveolea kolesterolün azalmasıyla kaveolea ile bağlı eNOS'la yer değiştirir. Bu durum, eNOS aktivasyonunun bozulmasıyla sonuçlanır (39). Lipoproteinlerin, enzim aktivasyon seviyesi ve membran kolesterol homeostazisine etkileri aracılığıyla kaveolaedeki eNOS fonksiyonları üzerine güçlü etkileri vardır. Bu süreçleri atherogenezin en erken fazları içerir.

Tetrahydrobiopterin NOS için esansiyel bir kofaktördür. L-arginine bağlanmanın artması ve dimerik yapıların stabilizasyonu gibi NOS fonksiyonu üzerine büyük etkileri vardır (40). Azalmış BH₄ yararlanımı NOS'un ayrılmasıyla sonuçlanarak O₂⁻ ve H₂O₂ üretimine neden olur. Hipertansiyonda BH₄ ilavesi endotelyal disfonksiyonu iyileştirir (41). Oral BH₄ ilavesi, yüksek kolesterol diyeti sonrası endotel bağımlı vasküler gevşemeyi iyileştirir ve metabolik sendrom gibi oksidatif stresin neden olduğu hastalıkların tedavisinde umut vaat eder (42). BH₄ azalmış NOS aktivitesi veya NO senteziyle karakterize farklı hastalıklarda NOS fonksiyonlarının düzenlenmesiyle ilişkilidir.

Endotelyal hücreler O₂⁻ üretirler ve bunlar SOD tarafından inaktive edilirler. NO bioyararlanımındaki kayıpta en önemli mekanizmanın NO'nun O₂⁻ ile etkileşiminden dolayı olduğu düşünülüyor (43). O₂⁻ seviyeleri önemli derecede artarsa, nitrik oksit ve O₂⁻ reaksiyona girer. Bu reaksiyon SOD tarafından O₂⁻'in dismutasyonundan altı kat daha hızlıdır (44). Bunun sonucunda, NO'nun bioyararlanımı azalarak, güçlü bir oksidan olan peroksinitrit (ONOO⁻) üretilir. Peroksinitrit protein ve peptidleri içeren aminoasit, nükleik asit ve tiollere kimyasal olarak dönüşebilir. Fizyolojik olarak pH:7.4'de % 20'lik peroksinitrit peroksinitrik asit oluşturmak için protonlanır ve NO₂⁻ ve OH⁻ radikali oluşturmak için parçalanır

(44). NO₂⁻ nitrofenolleri üretmek için fenol gruplarına saldırır. Biyolojik sistemlerde bu durum 3-nitrotirozin üretmek için tirozin kalıntılarının modifikasyonuna yol açar. 3-nitrotirozin oluşumu peroksinitrit oluşumu için stabil bir biyolojik marker olarak düşünülebilir ve bazı kardiovasküler hastalıklarda artar (45). Endotelyal hücreler sürekli düşük seviyede O₂⁻ üretirler. Bu hücreler aktive olduklarında O₂⁻ üretimi önemli derecede artar. Vasküler hastalıkların çoğu artmış süperoksit üretimi ile ilişkilidir. O₂⁻'nin enzimatik kaynağı hastalığın farklı tiplerinde değişebilir. Bunlar NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, lipoksijenaz ve NOS gibi enzimlerdir. Yapılan çalışmalar NADPH oksidazın O₂⁻ üretiminden asıl sorumlu enzim olduğunu göstermiştir (46). Endotelyal disfonksiyon O₂⁻ salınımı yoluyla NO'nin bioyararlanımında azalmaya neden olabilir.

Bozulmuş eNOS aktivitesi ve endotelyal disfonksiyon hipertansiyon, hiperkolesterolemi ve atheroskleroz gibi birçok hastalıkta görülmüştür (47).

1.1.14.3. Rhokinaz

RhoA'nın Ca duyarlı etkileyicisi bir serin treonin kinaz olan rhokinazdır. Vasküler düz kas hücre kasılmasını düzenlemenin yanısıra proliferasyon, adhezyon ve migrasyon gibi diğer hücre fonksiyonlarında da önemli rol oynarlar. Rhokinaz aktivasyonu fosforilasyona yol açar ve MLCP düzenleyici subunitin deaktivasyonu sürekli intrasellüler kalsiyum konsantrasyonlarında fosforile myozin hafif zincirin birikimiyle sonuçlanır (48). Fasudil gibi rhokinazın farmakolojik inhibitörleri, enzimde ATP bağlı bölgeyle yarışarak rhokinaz aktivitesini bloke eder (48). Rhokinaz inhibisyonu, birçok farklı agonistle kasılı kan damarlarının izole segmentlerinin gevşemesine neden olur ve hipertansif hayvan modellerinde kan basıncını düşürür (6). Rhokinaz 1 ve 2 olarak %92 oranında benzer olan iki farklı rhokinaz izoformu tanımlanmıştır. Bu izoformlar, vasküler düz kas ve kalpte exprese olur (49). RhoA/rhokinaz yolağının, NO sinyalinin tam tersine etkisi olduğu görülmüştür. NO RhoA/rhokinazın artmış kasıcı ve proliferatif etkilerine karşı koruyucu olabilir. RhoA'nın aracı olduğu kalsiyum duyarlılığı ve kasılma, NO/cGMP sinyal yolağı tarafından fosforilasyon ve daha sonrasında RhoA inaktivasyonu ile düz kas hücrelerinde inhibe edilir. RhoA'nın neden olduğu kalsiyum sensitizasyonunun inhibe edilmesi ve aktin sitoskeleton düzenlemesi NO'nin vazodilatör etkilerine katkıda bulunur. NO cGMP'ye bağımlı bir biçimde MLCP

aktivasyonu ile resistance arterleri dilate eder. Bazı çalışmalar, MLCP'nin cGMP tarafından aktive edildiğini göstermiştir. Endojen NO RhoA aktivasyonunu düzenleyebilirken, NO üretiminin kronik inhibisyonu RhoA desensitizasyonuna neden olur. Uyarılmış RhoA/rhokinaz aktivitesinin endotelial NO sentaz ekspresyonuna olumsuz etkileri vardır (50).

Anormal sempatik vazokonstriksiyon, VSMC'de değişmiş membran ve intrasellüler geçiş işlemlerinde olduğu gibi sempatik sinir sisteminin değişmiş santral ve periferik kontrolünden kaynaklanır. Bu hipertansiyona katkıda bulunan major faktörlerden biridir. Bu değişikliklerin hedefi myozin hafif zincirdir ve bunun fosforilasyonu vasküler düz kas kasılmasına neden olur. Myozin hafif zincirin fosforilasyonu, defosforilasyonun neden olduğu MLCP'yi önleyen ve fosforilasyonun destek olduğu kalsiyum bağımlı MLCK'yı içeren iki yolak tarafından düzenlenir (kalsiyum sensitizasyonu olarak adlandırılır). L-VDCC'nin aracı olduğu kalsiyum akımı ve RhoA/rhokinaz yolağının neden olduğu kalsiyum sensitizasyonu VSMC kasılma aktivitesinin iki major belirleyicisidir. Hipertansiyon boyunca L-VDCC aracılığıyla olan artmış kalsiyum akımı, G proteinlerin inhibisyonu ile cAMP/PKA yolağının düzenlenmesi aracılığıyla öncelikli olarak etkilerini gösteren vazokonstriktörler (endojen katekolaminler gibi) tarafından ortaya çıkar. Buna karşılık kalsiyum kanalları üzerine inhibitör etkisi olan cGMP/PKG yolağı NO'nin neden olduğu vazodilatasyonda önemli rol oynar. Diğer vazoaaktif agonistlerde olduğu gibi vasküler tonusun düzenlenmesinde bu iki major antagonist, MLCP'in inaktivasyonu aracılığıyla myozin hafif zincirin fosforilasyon seviyesini düzenleyen RhoA/rhokinaz sinyal yolağını etkiler. Değişik vazoaaktif ajanlar, myozin hafif zincir fosforilasyonunun düzenlenmesi ve sonrasındaki vasküler tonus için her iki yolda kullanılır. Hipertansiyon gelişiminde artmış kalsiyum akımının önemli olduğu anlaşılmıştır ancak RhoA/rhokinaz yolağının rolü tam olarak anlaşılamamıştır (6).

Rhokinaz aktivitesi, metabolik sendrom ve koroner arter hastalarında periferik lökositlerde artmıştır. ROCK aktivitesinin, periferik kan lökositlerinde noninvaziv metodlarla ölçülmesi sonucunda hipertansiyonda artmış olduğu görülmüştür. Lökositlerdeki ROCK aktivitesi, lökosit bağlanmasını ve infiltrasyonunu vasküler duvarda arttırmıştır. Bu durum, atherosklerozun ilerlemesiyle sonuçlanır. Lökosit

ROCK aktivitesi, hipertansiyon ve ateroskleroz için önemli bir biomarker olabilir (51).

1.1.14.4. Kaveolin-1

Kaveolae membrandaki küçük zincirlerdir. Plazma membranında hareketli sinyal bölgeleri olarak fonksiyon görürler ve endotel hücrelerinde her yerde hazır halde bulunurlar (52). Kaveolin-1 kaveolae içeren 22 kDa olan bir proteindir. Transitoza aracılık etmek, sinyal proteinlerini düzenlemek ve eNOS gibi enzimleri aktiflemek gibi değişik fizyolojik rolleri vardır (7). Kaveolin eNOS aktivitesini, in vitro inaktif durumlarda onu etki yerinde tutarak düzenler. eNOS external stimülasyonla kaveolin-1'den ayrıldıktan sonra, kalsiyum/kalmodulin veya ısı şok proteini 90 ile kompleks oluşturur. Sonra eNOS aktive edilmiş olur ve NO üretimi artar (8). Ayrıca ateroskleroz, pulmoner hipertansiyon, diabetes gibi değişik hastalıklarda uyarıcı ve aracı olarak fonksiyon gördüğü için, kaveolinin önemi gittikçe daha iyi anlaşılmaktadır (53). Hipertansiyonda kaveolin ekspresyonunun endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücrelerinde artmış olduğu belirlenmiştir ve bu nedenle antihipertansif hedef haline gelmiştir (10).

Nitrik oksit üretimi kaveolin, hsp90 veya Cu/Zn superoksit dismutaz gibi diğer moleküler sistemlerdeki değişiklikler aracılığıyla artabilir (8). Güncel çalışmalar, seçilmiş HMG-CoA redüktaz inhibitörlerinin, endotelial anjiyogenez modelindeki hsp90 ile ilişkili mekanizmalar aracılığıyla NO üretimini arttırdığını göstermiştir. HMG-CoA redüktaz inhibitörleriyle tedavi, eNOS ile hsp90 veya Ca/CaM 'nun etkileşimini destekleyerek veya kaveolin-1 ekspresyonunu deprese ederek eNOS fosforilasyonunu artırır. Böylece, eNOS aktive olur (54). eNOS fosforilasyonunun rolü, onun subsellüler lokalizasyonu ile etkileşen aktivasyonu için belirleyici bir faktör olarak açıklanmıştır. eNOS en az iki subsellüler kompartmanda lokalizedir. Bunlardan biri perinükleer lezyonlardaki golgi, diğeri ise plazma membranındaki kaveoldür. Membrana bağlı eNOS'un genel olarak daha aktif olduğu ve aktivasyon için genellikle Akt tarafından fosforillendiği tahmin edilmektedir. Subsellüler kompartmanda lokalizasyona ek olarak, kaveolin-1 ile eNOS'un bağlanması eNOS aktivasyonunu inhibe ve NO üretimini suprese eder (9). Kaveolin-1 olmayan hayvanların izole aortaları sabit bir kasılma tonu oluşturamayabilir. Damarsal gevşemeyi uyarmak için mediaya Ach eklendiğinde,

kaveolin-1 olmayan farelerin aortaları wild tip kontrol grubundan önemli ölçüde daha fazla gevşeme cevabı göstermiştir (55). SHR'larda bioaktif NO'nin düşük bazal üretimi, eNOS'un artmış ekspresyonu ve düşük kaveolin-1 ekspresyonu ile ilişkilidir. Bu durumda kaveolin-1, kompensatuar mekanizma gibi bioaktif NO'nin üretiminin sürdürülmesi için eNOS'un negatif bir düzenleyicisi olarak rol oynamıştır (56). En son çalışmalar, kaveolin-1'in Akt, CaMK, PKA, PKC ve hsp90 gibi diğer sinyal molekülleri ile uyumlu olarak eNOS aktivasyonunu düzenlediğini göstermiştir (8).

Vasküler konneksinler kaveolin-1 ve eNOS ile etkileşim halinde bulunarak hipertansiyonda önemli rol oynayabilirler. SHR'larda endotelial Cx37 ve Cx43 seviyeleri önemli düzeyde azalmıştır. Cx37 ve Cx43 seviyelerindeki bu düşüş, adrenerjik blokerlerle tedavide kan basıncındaki düşüş ile birlikte azalır. Bu bulgular, eNOS'un aracı olduğu hipertansiyon ile Cx37 ve Cx43 arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Ancak aracı olan yolak henüz anlaşılamamıştır (57). NO'nin Cx37 üzerine olan etkileri muhtemelen S-nitrosylation, Cx40 üzerine olan etkileri ise cGMP aracılığıyla. Ancak, moleküler değişimler ve etkileşimler tam olarak bilinmemektedir. Endotelial hücrelerde, eNOS en az iki konneksinle birlikte bulunabilir (Cx37, Cx43). Bu etkileşim membranda eNOS fonksiyonunu ve ekspresyonunu etkiler. eNOS kaybı membrandaki gap junctionlar arasındaki bağlantıyı etkiler. Ancak bunun eNOS ile konneksinler arasındaki etkileşimin kaybindan mı ya da konneksinler üzerine NO yolağının etkilerinin azalmasından mı kaynaklandığı bilinmemektedir. Atheroskleroz, hipertansiyon ve diabet gibi vasküler değişikliklerin olduğu hastalıklarda NO yolağı, konneksin ekspresyon ve fonksiyonu değişmiştir (58). Cx37'in C bölgesi eNOS ile bağlı bir bölge içerdiği için eNOS ve Cx37 direk etkileşim halindedir (59). eNOS'un Cx37 ile bağlı olan kısmı kaveolin-1 (eNOS'un negatif düzenleyicisi) ile bağlı olan bölgeyle aynıdır. Endotelial hücre kültürlerinde, eNOS ve Cx37 arasındaki ilişki gösterilememiştir. Ancak, Cx37'deki bozulma artmış eNOS aktivitesi ve NO üretimiyle sonuçlanır. Bu durum, kaveolin-1 gibi Cx37'in de eNOS'un negatif düzenleyicisi olabileceğini gösterir (59). eNOS ve konneksin, lipid ve kaveolea ile lokalize olabildiği için fiziksel olarak kaveolin-1 ile ilişkilidir. Kaveolin-1 ile etkileşimdeki kayıp, eNOS'un hareketlerini ve bağlanmasını değiştirebilir. Kaveolin-1'deki kayıp, Cx37'in eNOS'a bağlanmasına destek olabilir. İn vivo olarak aortik endotel hücrelerinde eNOS, Cx37 ve Cx40

arasında kısmen de olsa bir ilişki olduğu gösterilmiştir (58). Uyarılmamış endotel hücrelerinde, kaveolin-1 eNOS ile bağlıdır ve onun aktivitesini suprese eder. Artan uyarıyla kalsiyum-kalmodulin eNOS'a bağlanır ve kaveolin-1 eNOS'un tamamen aktive olabilmesi için ayrılır (60). Kaveolin-1'in yokluğunda, normal endotelial kaveolar yapılarda eksiklik ve eNOS fonksiyonlarının uygun şekilde düzenlenmesinde yetersizlik vardır (61). eNOS'da olduğu gibi konneksinlerle kaveolin-1 arasında ilişki bulunmuştur (62). Kaveolin-1 ekspresyonunda kayıp olursa, Cx43, Cx40 ve Cx37 ekspresyonu aorta ve mezenter arterde tamamen azalır. Bu durum superior mezenter arterde azalmış endotel bağımlı hiperpolarizasyon-vazodilatasyon ve myoendotelial gap junction boyamasında bozulma ile birlikte (62). Kaveolin-1 membrana uygun vasküler konneksin lokalizasyonu, fonksiyonel myoendotelial bağlantı proteini oluşumu ve normal gap junction bağımlı vazodilatasyon cevapları için gereklidir. Cx37 ile kaveolin-1'in etkileşimi, calmodulin bağlanması ve NO üretiminin düzenlenmesi için Cx37 ile eNOS'un etkileşimi aracılığıyla bir yol olabilir (59) .

1.1.14.5. Isı Şok Proteini 90 (Hsp90)

Isı şok proteini 90 NOS'un uygun şekilde katlanmasında ve fonksiyon görmesinde önemli olan ubikutoz bir şaperondur (27). eNOS'un düzenlenmesinde, eNOS ile hsp90 ve kaveolin-1 arasındaki etkileşim önemlidir (63). NO'nin çoğu metabolik etkisine, NO'nin sGC'nin hem prostetik grubuna bağlanarak sGC'yi aktive etmesi sonucunda GTP'nin cGMP'ye dönüşmesi aracılık eder. sGC, hsp90 ve eNOS aortik endotel hücrelerinde kompleks halde bulunurlar. sGC, hsp90 ve eNOS ile agonist şekilde etkileşim içerisindedir (64). Ortalama arteryal basıncında, SNP'nin neden olduğu düşüşün hsp90 inhibitörü tarafından azaltılması, NO'nin etkilerinde sGC ve hsp90 arasındaki etkileşimin önemli olduğunu gösterir. Hsp90'nın aşırı ekspresyonu, hipertansiyonun neden olduğu böbrek yetersizliği sonucunda böbrek tubul hücrelerinde görülmüştür (65). Hipertansiyonda hsp90 ekspresyonu, sol ventrikül ve mezenter arterde daha yüksek iken bu oran aortada değişmemiştir (66). Endotelial hsp90 ekspresyonu, NOS aktivitesi ve NO üretimi portal hipertansiyonda mezenterik vasküler yataklarda artmıştır (67). Hsp90 ekspresyonu, hipertansiyonda serebral mikrovasküler damarlarda da artmıştır (68).

1.1.14.6. NADPH oksidaz

Birçok kardiovasküler hastalık, vasküler duvardaki ROS seviyelerindeki artış ile ilişkilidir (17). NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, mitokondrial solunum zinciri enzimleri ve ayrılmış eNOS gibi çeşitli enzim sistemleri ROS üretebilir (69). NADPH oksidaz, vasküler sistemde ROS'un ana kaynağıdır (17). O_2^- 'nin farklı izoformlarını üreten NADPH oksidaz vasküler duvarda bulunur. Bu O_2^- 'ler avantajlı olduğu gibi endotel ve düz kas hücrelerinde ekspresyon olur. Kardiovasküler risk faktörleri bu enzimlerin ekspresyon ve aktivitesini artırarak, ROS üretiminde artışa yol açarlar. Vasküler sistemde NADPH oksidaz aktivitesi, hipertansiyonun hayvan modellerinde ve diabetes mellitusun farklı formlarında kanıtlanmıştır. Deneysel hiperkolesterolemi NADPH oksidaz aktivitesi ile ilişkilidir. Atherosklerotik arterlerde NADPH oksidazın gp91phox (Nox2) ve Nox4 subunitlerinin ekspresyonundaki artış oksidatif strese neden olabilir (70).

Hiperkolesterolemide sistemik ve lokal renin anjiyotensin sistemleri aktive olabilir. NADPH oksidazların aktivitesi üzerine anjiyotensin II'nin uyarıcı etkileri göstermiştir ki renin anjiyotensin sisteminin aktive olması artmış vasküler O_2^- üretimine ve vasküler disfonksiyona sebep olabilir (18).

Vasküler duvarda artmış NADPH oksidaz ekspresyon ve aktivitesi, artmış O_2^- üretimi ve eNOS ayrılması PKC aktivitesinin bir sonucu olarak gözükür. PKC inhibitörleri O_2^- üretimini azaltmış, in vivo NADPH oksidazın upregülasyonunu inhibe etmiş ve eNOS ayrılmasını tersine çevirmiştir. Bu nedenle, NADPH oksidazların ekspresyon ve aktivitesindeki artışlar kısmen de olsa PKC bağımlıdır. PKC aktivasyonu artmış eNOS ekspresyonuna yol açar. Eğer enzimde ayrılma olursa patofizyolojik durumlar ağırlaşır olur (18).

Vasküler duvarda ROS'un çeşitli kaynakları var olduğu halde, NADPH oksidazlar vasküler duvarda redox sinyalinin ve oksidatif stresin temel komponentleri olarak bulunurlar. Bugüne kadar beş tane Nox isoformu (Nox 1,2,3,4 ve 5) ve Duox 1 ve 2 olarak adlandırılan ek olarak bir tane peroksidaz zinciri içeren iki homolog oksidaz bulunmuştur (71). İn vivo katalitik subunit p22phox'da olduğu gibi fagositik gp91phox'un makrofaj indüklü ekspresyonu, ilerlemiş lezyonlardaki düz kas Nox4 ekspresyonundaki artıştaki gibi insan koroner arterlerindeki atherosklerotik plak lezyonları içerisinde tanımlanmıştır. Plaklarda olduğu gibi

damar duvarlarının medial tabakasında p22phox'da artış gözlenmiştir (72). Özellikle plak merkezinde ve advantisyal makrofajlarda gp91phox ekspresyonu gözlenmiştir. Medial düz kas tabakasında ve plak düz kas hücrelerinin luminal yüzeyinde gp91phox'un tersine Nox4 ekspresyonu lokalizedir. Nox'lar p47phox, NOXO1, p40phox, p67phox, NOXA1, Rac1 ve Rac2'yi içeren sitozolik komponentlerde olduğu gibi bir veya iki membran proteininden (Nox ve p22phox) oluşan multimerik komplekslerdir. İnsan vasküler düz kas hücrelerinde Nox 1, Nox 2, Nox 4 ve Nox 5 ekspresyonu bildirilmiştir. Fagositik Nox2 durumunda tamamen aktif enzim p47phox, p67phox, ve Rac ile birlikte Nox2 ve p22phox'ın varlığını gerektirir. Aktivasyon p47phox'un C-terminal bölgesinde uyarıların sonucunda serin fosforilasyonunu gerektirir ve bu durum membran kompleksinde p67phox'ı hedef alır (73). p67phox'un N-terminal bölgesi GTP bağlı Rac ile etkileşir ve p67phox'un aktivasyon zinciri süperoksit üretimi için p22phox/Nox2 kompleksi içerisine elektron akışına izin verir (74). NADPH oksidaz aktivitesi, lipid metabolitleri tarafından kompleks düzenlenmesinin etkisi altındadır ve p47phox ve p40phox'un phox homolog zincirleriyle etkileşir (75).

1.1.14.7. ADMA (Asimetrik dimetilarginin)

Asimetrik dimetilarginin doğal olarak oluşan bir aminoasittir ve her üç NOS'un aktivitesini inhibe edici özelliği vardır. ADMA en güçlü endojen NOS inhibitörüdür. ADMA ilk olarak insan idrarından yapısal izomer simetrik dimetilarginin olarak izole edilip tanımlanmıştır. Fonksiyonel olarak önemli bir proteindir. Vücut proteinlerinin metaboliti olarak idrara sekrete edilirse, idrar ADMA miktarı vücut proteinlerindeki metilasyon ve dönüşüm miktarlarının oranını yansıtabilir. ADMA'nın bozulması değişik patolojik olaylarla ilgili çalışmalar için önemli olabilir. ADMA NO üretimini in vivo ve in vitro olarak inhibe edebilir (76). ADMA birikimi, NO sentezinde bozulmaya yol açarak kronik böbrek yetersizliği ile ilişkili hipertansiyon ve immun disfonksiyona neden olabilir. Klasik ve yeni kardiovasküler risk faktörleri (yükselmiş plazma LDL, trigliserid, glukoz, homosistein ve inflamatuvar mediatör seviyeleri) yükselmiş plazma ADMA seviyeleri ile ilişkilidir (77). ADMA karotid arter veya sol ventrikül kitlesinin intima-media kalınlığı gibi kardiovasküler problemlerin yerleşmiş klinik markerları ile ilişkilidir (78). Yüksek ADMA, dolaşan endotelial progenitor hücrelerin sayısında azalmaya

neden olarak vasküler onarıcı mekanizmalara engel olur (79). İleri çalışmalar genel popülasyon ve kardiovasküler rahatsızlığı olanlarla ADMA, mortalite ve kardiovasküler olaylar arasında güçlü ve bağımsız bir ilişki olduğunu göstermiştir (80). Eksojen ADMA infüzyonu sistemik vasküler rezistansı, ortalama arteriyel kan basıncını ve erkeklerde pulmoner vasküler rezistansı arttırır, kalp hızını ve kardiyak outputu azaltır. ADMA doz bağımlı olarak renal kan akımını ve sodyum reabsorbsiyonunu bozar. Aynı zamanda eksojen ADMA, serebral perfüzyonu azaltır ve vasküler gerginliği arttırır (81). Gelişmekte olan bu deneysel ve klinik çalışmalar, ADMA'nın sadece bir marker olmadığını aynı zamanda endotelial disfonksiyon ve atherosklerozisde güçlü bir aracı olduğunu göstermiştir (76). İnsanlar günde yaklaşık olarak 300µmol ADMA üretirler. L-arginin verilmesi vücutta ADMA ve SMDA atılımını arttırmaz. ADMA proteinlerden metilasyon ve hidroliz aracılığıyla salınır. Bu proteinler, büyük miktarda nukleolusta bulunurlar. Bunların RNA proçesing ve transkripsiyonel kontrolü içerdiği görülmüştür. Bugüne kadar ADMA üretimi, artmış PRMT aktivitesi veya artmış protein turnover'nın tek başına artmış ADMA seviyelerine katkıda bulunup bulunmadığı açıklanamamıştır. Son dönem KBY'li kişilerde artmış protein katabolizma oranı, yükselmiş ADMA seviyeleri ile ilişkilidir.

Dimetil arginin aminohidrolaz enzimi, ADMA'nın dimetilamin ve l-sitruiline hidrolizine aracı olur. DDAH 1 enzimi nNOS üreten dokularda, DDAH 2 ise eNOS üreten dokularda öncelikli olarak bulunur. DDAH 1 ve 2, ADMA'yı hücrel ve doku seviyesinde düzenleyen anahtar enzimlerdir. Günde 50µmol ADMA idrarla sekrete edilirken, 250µmol ADMA DDAH tarafından elimine edilir. DDAH beyin, böbrek, pankreas ve karaciğerde yüksek oranda exprese olur (82). Bu yüzden böbrekler ADMA'nın eliminasyonunda, idrarla atılım ve enzimatik yolda büyük role sahiptirler.

Birçok çalışmada, ADMA kardiovasküler rahatsızlıkların patofizyolojisinde kritik rol oynayan üremik bir toksin olarak sınıflanmıştır. ADMA kardiovasküler rahatsızlıkların erken döneminde renal fonksiyonlarda azalma oluşmadan önce yükselme gösterir. ADMA farklı dönem kalp hastalıklarında total ve kardiovasküler mortalitenin bir habercisidir (76). Bu yüzden, düşük ADMA seviyesi kardiovasküler ve renal hasarı azaltabilir.

Plazma ADMA seviyeleri ile arteriyel kan basıncı arasındaki ilişki, bilinen vasküler hastalığı olmayan erken dönem hipertansiyonu olan hastalarda bildirilmiştir. Yükselmiş plazma ADMA seviyeleri, hipertansiyon gelişiminde rol oynayabilir. Yeni tanı konmuş ve tedavi edilmiş hipertansif kişilerde, artmış plazma ADMA seviyeleri, azalmış sistemik NO üretimi ve bunun sonucunda azalmış üriner NO_x atılımı bildirilmiştir (83). Benzer şekilde artmış plazma ADMA seviyeleri, hipertansif çocuklarda ve yaşlılarda da görülmüştür (84). Artmış plazma ADMA ve SDMA düzeyi, normotensiflere göre hipertansif kişilerde artmıştır. Bununla birlikte normotansif bireylerin büyük bir kısmında, plazma ADMA seviyesi ile diastolik kan basıncı arasında ters bir ilişki gösterilmiştir (85). Esansiyel hipertansiyonlu genç erkeklerde plazma ADMA seviyesi ile kan basıncı arasında ilişki bulunamamıştır (86). Anjiyotensin sistemine zıt yönde etki eden antihipertansif ilaçlar dolaşımdaki ADMA seviyelerini azaltmıştır. Anjiyotensin 2 inkübe edilmiş rat böbreklerinden alınmış doku örneklerine anjiyotensin AT1-reseptör blokörü telmisartan ilavesi, DDAH-1 protein ekspresyonunu arttırmıştır. Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda renal atılımın kısmen azalmasından dolayı plazma ADMA ve SDMA seviyeleri yükselmiştir. Dolaşımdaki yükselmiş ADMA seviyeleri, hipertansiyona sebep olabildiği gibi hipertansiyondan kaynaklanabilir ve kardiovasküler olay riskini arttırabilir.

Yükselmiş intrasellüler ADMA seviyelerinin en belirgin etkisi, NOS'un yarışmalı inhibisyonuyla NO üretiminin azalmasıdır (87). Metilargininler NOS kaynaklı süperoksit üretimini düzenleyebilirler (88). BH₄'ün azalması durumunda ADMA, eNOS tarafından süperoksit üretimini uyarır. Oksidatif stres BH₄'ü BH₂'ye okside ederek eNOS ayrılmasına sebep olabilir. ROS intrasellüler ADMA seviyelerini arttırabildiği için artmış oksidatif stresi devam ettirmek için potansiyel pozitif feedback bir mekanizmadır. Endotelial hücrelerin 30µmol/l ADMA'ya maruz kalması, artmış TNF-α ve IL-β üretimi aracılığıyla artmış ROS, azalmış nitrit/nitrat üretimine, monositlere endotelial hücre adhezyonunda artışa ve NF-κβ aktivasyonuna yol açarak inflamatuvar yolda artışa neden olur (89). ADMA'nın nNOS üzerine olan etkileri, eNOS'a etkilerinden farklıdır. BH₄ varlığında nNOS tarafından süperoksit üretimi ADMA ve L-arginin tarafından bağımsız olarak inhibe edilirken, BH₄ yokluğunda nNOS tarafından süperoksit oluşumunu ADMA ve L-

arginin değiştirmeyebilir (90). ADMA, endotel hücresinde kendi bozulmasını düzenleyebilir (91). NO cGMP'nin indüklemesiyle DDAH-2 gen ekspresyonunu uyarır. NOS inhibisyonu ile artmış intrasellüler ADMA seviyeleri ve azalmış NO üretimi başka bir pozitif feedback mekanizma olabilir. Bu şekilde, DDAH-2 gen ekspresyonunun azalmasıyla ADMA bozulması azalabilir. ADMA, ROS'lar aracılığıyla artan NO bio-inaktivasyonun ve NO üretiminin inhibisyonu ile sellüler NO seviyelerini düzenler. Artmış ADMA seviyeleri, inflamasyonu tetikleyen yolları uyarabilir (92).

1.2. Deneysel Hipertansiyon Modelleri

Etyolojilerine göre hipertansif hayvan modelleri primer ve sekonder olarak iki gruptan meydana gelir. Uygulama şekline göre primer hipertansiyon genetik ve çevresel etkenlere bağlı olarak iki grupta, sekonder hipertansiyon ise renal ve farmakolojik kaynaklı olarak iki grupta incelenebilir.

1.2.1. Genetik Uyarı ile Oluşan Hipertansiyon

Bu modelde, spontan hipertansif rat (SHR) ve Dahl'in tuza duyarlı ratları örnek verilebilir. SHR'lar wistar cinsi hipertansif ratlar olup, yakın akraba içinde çiftleştirme yaptırılan, doğumdan sonra 4-6. haftalarda hipertansif hale gelen ve kan basıncı yüksekliği tuzla ilişkili olmayan ratlardır. Dahl'in tuza duyarlı ratları ise; Sprague-Dawley cinsi olup, tuza karşı verdikleri kan basıncı yanıtına göre erken yaşta hipertansif ve non-hipertansif olarak ayrılan ratların kendi içlerinde çiftleşmeleriyle oluşturulan yeni ratlardan, tuza en yüksek kan basıncı cevabını verenlerin ayrılmasıyla elde edilir. Spontan hipertansif ratlar kalp yetmezliği, kardiyak hipertrofi ve böbrek yetmezliği gibi birçok hipertansif end organ hasarına sahiplerdir. SHR'lar günümüzde deneysel hipertansiyon modelleri içerisinde ilk sırada kullanılmalarına rağmen oluşum patogenezi netlik kazanmamıştır (93).

1.2.2. Çevresel Uyarı ile Oluşan Hipertansiyon

Ayrı ayrı olarak stres, soğuk ve diyetin (yüksek yağ, şeker veya tuz oranına sahip diyet) neden olduğu hipertansiyon modelleri bu grupta incelenebilir.

1.2.3. Farmakolojik Uyarı ile Oluşan Hipertansiyon

Bu tip hipertansiyon modelinde DOCA-tuz indüklü hipertansiyon oluşturulur. Hipertansiyon gelişmesi için deneklere 300-1000 mg/kg/gün (sc) kadar yüksek dozda DOCA (deoxycorticosterone acetate) verilir. Bununla birlikte hipertansiyonun şiddetini arttırmak için içme suyu yerine salin solüsyonu verilir. Bu şekilde geliştirilen hipertansiyonun oluşumunu kolaylaştırmak için renal kitlenin bir miktar cerrahi olarak azaltılması gerekir. Bu modelde ilk başlarda hipertansiyon tuza bağımlı özellik gösterir. DOCA-tuz aracılı oluşturulmuş hipertansiyon, düşük renin seviyeli ve yüksek volümlü bir hipertansiyon modelidir. Arginin vasopressin (AVP)'in bu şekilde oluşturulmuş hipertansiyonun gelişiminde ve devamlılığında etkili olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda sempatik sinir sisteminin bu hipertansiyon modelinde etkili olduğuna dair kanıtlar vardır (94-95).

1.2.4. Renal Uyarı ile Oluşan Hipertansiyon

Renin anjiotensin aldosteron sisteminin önemli bir elemanı olan böbreğin, renin salgılamak ve sıvı-elektrolit dengesini sağlamak gibi önemli fizyolojik fonksiyonları bulunur. Bu nedenle, hipertansiyon patogeneğinde önemli bir role sahip olabileceği her zaman düşünülmüştür. Goldblatt ve arkadaşları, köpek renal arterini kısmi olarak kasarak kan basıncında yükselme elde etmişlerdir. Bundan yola çıkarak, birçok renal uyarı ile oluşturulan hipertansiyon şekli değişik türlerde elde edilmiştir. Goldblatt modelinde, iki böbrek bir klemb (tek renal arter klembli, diğeri işler durumda) ve tek böbrek tek klemb (bir böbrek çıkarılıp, diğesine klemb konulur) şeklinde yapılmıştır. Bu hipertansiyon modelinde plazma renin düzeyi bifazik seyir gösterir. Başlangıç aşamasında, sodyum retansiyonu 1. haftaya doğru düzelmeye meyil göstermiştir. Bu durum, plazma renin aktivitesi ile paralellik gösterdiği için, RAAS'ın 2B1K goldblatt modelinde etkili olabildiğini düşündürür. Her iki tipteki goldblatt modelinde klip çıkarıldığında kan basınçları normale döner. Anlaşıldığı üzere Goldblatt'ın oluşturduğu hipertansiyon şekli geri dönüşlü ve tekrarlanabilir bir deney modelidir.

1.3. NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyon

Ratlarda farklı dozlarda verilen nitrik oksit sentaz inhibitörünün hipertansiyona yol açtığı görülmüştür. Daha yüksek dozları ise şiddetli hipertansiyon

ve organ hasarı oluşturmuştur (96). Ratlarda hipertansiyon oluşturmak için ilk NOS inhibitörü L-arginin analogu olan L-NAME kullanılmıştır. L-NAME'in suda çözünebilir olması, rahatça içme suyuyla hayvanlara verilebilmesi NOS inhibisyonu oluşturmak için yaygın olarak kullanılmasına yol açmıştır. Ayrıca L-NAME intraperitoneal injeksiyon yoluyla ratlarda hipertansiyon oluşturabilir.

N-Nitro-L-Arjinin Metil Ester (L-NAME) uygulanarak hipertansiyon oluşturulmuş ratlarda yapılan çalışmalarda farklı kan basıncı değerleri saptanmış olmasına rağmen kan basınçlarında anlamlı bir yükselme görülmüştür. Bu yükseliş, uygulama süresine ve doza bağımlı olarak görülmüştür. Ancak farklı soylardaki ratlarda aynı dozda uygulanan L-NAME'in değişik hipertansif cevaplara yol açtığı görülmüştür. Kan basıncı artışlarındaki bu farklılığa rağmen uzun süre yüksek dozda L-NAME uygulamasının daha fazla vasküler ve renal patolojinin oluşmasına neden olduğu görülmüştür (96-97).

Dokularda nitrik oksit oksidasyon ile nitrit ve nitrata dönüştürülerek inaktive hale getirilir. Bu reaksiyon süperoksit kaynaklı radikaller tarafından katalize edilir. Doku banyosuna süperoksit dismutaz ilave edildiğinde NO yarılanma süresinin uzaması da bu fikri doğrulamıştır. Süperoksit anyonu (O_2^-) dokularda spesifik oksidazlar (NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, monooksijenaz, sitokrom P450) tarafından üretilmektedir (98-100). Normal şartlarda O_2^- hücre metabolizmasında sabit olarak üretilse de, hücre differansiyasyonu, apoptozis ve immun cevapları etkileyen toksik bir ajan olduğu görülmüştür (99, 101). O_2^- in toksik etkilerinin antioksidan süperoksit dismutaz tarafından önlendiği görülmüştür. Aynı zamanda NO'nun O_2^- nin yan etkilerini azaltan güçlü antioksidan özelliklerinin olduğu gözlenmiştir (102-104). NO ile O_2^- in reaksiyonu sonucu peroksinitrit oluşum hızı, süperoksit dismutaz ile O_2^- in reaksiyonu sonucu hidrojen peroksit oluşum hızından 3 kat daha fazladır. Hücredeki O_2^- üretimi, NO düzeyi ve her ikisi arasındaki etkileşim hücre fonksiyonlarının düzgün şekilde ilerlemesi açısından önemlidir (105). Bu nedenle, L-NAME aracılığı ile nitrik oksit sentezinin inhibisyonu oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır (106). Oksidatif stresin artışı da, renin anjiyotensin sisteminin aktivasyonuna neden olmaktadır (107).

1.4. Rosuvastatin, Amlodipin

1.4.1. Rosuvastatin

Statinler dislipidemi tedavisinde, atheroskleroz, hipertansiyon ve koroner arter hastalığını içeren kardiovasküler rahatsızlıklarda yaygın olarak kullanılırlar. Kolesterol biosentezinde görevli bir enzim olan HMG-CoA redüktazın inhibisyonu aracılığıyla kolesterol düşürücü etki gösterirler. Ayrıca statinlerin kardiovasküler korumada etkili olan antiinflamatuvar, antioksidan, antiplatelet ve antifibrotik özellikleri vardır. Statinlerin kardiovasküler etkilerine aracı olan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Endotel kaynaklı gevşetici faktörlerin (NO) üretimiyle kardiyak fonksiyonların düzenlenmesinde görevli bir enzim olan endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) üzerine statinlerin potansiyel düzenleyici rolü birçok çalışmada gösterilmiştir. NO'nun vasküler üretiminin antiinflamatuvar, antiplatelet ve vasküler dilatasyon yapıcı etkileri vardır. İsooprenoid sentezinin inhibisyonu ve sonrasında GTPaz rho'nun isoprenilasyonunun önlenmesiyle statinler, eNOS'un upregülasyonuna neden olurlar. Statinlerin neden olduğu eNOS aktivasyonuna, PI3K/ PKB/Akt sinyal yolağı da aracı olur. Ayrıca, statinler vasküler endotelde kaveolin-1 ekspresyonunu inhibe ederek eNOS aktivasyonunu arttırmırlar (108).

Kardiovasküler korumanın sağlanmasında, statinlerin eNOS düzenlenmesindeki rolü bazı çalışmalar tarafından kanıtlanmıştır. Rosuvastatin'in TNF α 'nın neden olduğu eNOS protein ekspresyonundaki down regülasyon sonucunda oluşan zararlı etkileri ters çevirdiği gösterilmiştir (109). Statinlerin, atherosklerotik süreç ve endotelial disfonksiyon sırasında eNOS ekspresyon ve aktivitesinde artış aracılığıyla yararlı etkileri olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Rosuvastatinin myokardial eNOS ekspresyonunu upregüle ederek, iskemi reperfüzyonun neden olduğu myokardial hasarı önlediği gösterilmiştir (110). Rosuvastatin, kaveolin-1 ekspresyonunu azaltarak ve bunun sonucunda in vivo eNOS fonksiyonunu arttırarak, kan basıncı ve kalp hızında iyileşmeye neden olur (111). Rosuvastatin kaveolin-1'in down regülasyonu ve daha sonrasındaki eNOS aktivasyonu aracılığıyla hipertansiyondaki endotelial disfonksiyonu düzeltmiştir (5). Rosuvastatin'in endotelial progenitör hücreler üzerine uyarıcı etkilerinin olduğu görülmüştür (5).

Düşük doz statin tedavisi, Akt aktivasyonu aracılığıyla bir proanjiojenik etkiye ve artmış NO üretimine neden olabilir (112). Statinlerin proanjiojenik özellikleri ve vasküler hasar sonrası reendotelizasyon üzerine olan etkileri, endotelial progenitör hücrelerin artmış survisi ile ilgili olabilir (113). Endotelial NO, statinlerin kardiyak disfonksiyon, intertisyel fibrozis üzerine olan etkilerinde ve miyokard infarktüsünden sonraki survide gereklidir. Statinlerin neden olduğu NO üretimindeki artış, kardiyovasküler farmakolojide önemli bir hedef olabilir (114). Kardiyovasküler komplikasyonların önlenmesinde, statinlerin neden olduğu eNOS aktivasyonu ve NO üretimi önemli bir role sahiptir.

Statinlerin aracı olduğu HMG-CoA redüktaz inhibisyonu, farnesil pirofosfat ve geranyl geranyl pirofosfat gibi isoprenoidlerin üretimini inhibe eder. Rho içeren GTP bağlı proteinlerin isoprenilasyonu GGPP tarafından gerçekleştirilir. GGPP GTPazı inaktif sitozolik durumdan aktif membran bağlı forma çevirir. Bu durum Rho A yolağının aktivasyonunu sağlayarak, eNOS ekspresyonunun down regülasyonuna neden olur (115). Statinlerin aracı olduğu isoprenilasyon sürecinin önlenmesiyle, Rho/Rhokinaz yolağının inhibisyonu sonucunda eNOS mRNA ekspresyonu upregüle olur (116). Statinler (PI3K)/(PKB/Akt) yolağını aktive etme özelliklerinden dolayı eNOS aktivasyonuna neden olabilirler (117). (PI3K)/(PKB/Akt) yolağının aktivasyonu sonucunda eNOS fosforillenerek aktive olur (118). eNOS ekspresyonunun upregülasyonu, PI3K/Akt yolağının aktivasyonu aracılığıyla eNOS fosforilasyon/aktivasyonunu başlatabilir. PI3K inhibitörleri tarafından Akt'nin eNOS'u fosforilleme özelliğinin bloke edilmesiyle, PI3K'nin eNOS aktivasyonunda PKB/Akt'nin önemli bir aracı olduğu görülmüştür (54). GTPaz/Rhokinazın insan endotel hücrelerinde PKB/Akt inhibisyonuyla, eNOS fosforilasyon/aktivasyonunu negatif olarak düzenlediği gösterilmiştir (119). Rho/rhokinaz yolağı, eNOS ekspresyon ve aktivasyonu seviyesinde endotelial fonksiyonu negatif olarak düzenleyebilir. Statinlerin neden olduğu eNOS aktivasyonu, Rho/rhokinaz yolağının inhibisyonu ve yüksek kolesterol ile ilişkili kaveolin-1 ekspresyonundaki bozulma ile bağlantılı mekanizmaları içerebilir.

Endotel kaynaklı eNOS aracılığıyla üretilen NO vazokonstriksiyon, trombosit agregasyonu, lökosit adhezyonu ve düz kas hücre proliferasyonunu inhibe edici özellikleri aracılığıyla kardiyak fonksiyonları düzenler. Kolesterol düşürücü ilaçlar

olan statinler, kardiovasküler hastalık riskini azaltmak için yaygın olarak kullanılırlar. Ancak statinlerin yararlı klinik etkileri sadece onların kolesterol düşürücü özellikleri ile sınırlı değildir. Statinler Rho/ROCK, PI3K/Akt, kaveolin, LOX-1, SR-B1, E5'N, adenosine, PDK-1, ERK 1/2 gibi çeşitli yollar kullanarak eNOS aktivasyon ve upregülasyonu aracılığıyla endotel bağımlı NO'ı artırabilir (108).

Statinlerin eNOS düzenleyici rollerinin araştırılması gerekir. Bu şekilde, kardiovasküler hastalıkların tedavisinde statinlerin daha iyi şekilde kullanılması için yeni bakış açıları elde edilebilir (108).

Hiperlipidemi ve oksidatif stresin DDAH aktivitesi üzerine olumsuz etkilerinden dolayı, statinlerin güçlü antioksidan ve lipit düşürücü özelliklerinin ADMA metabolizmasını normalleştireceği ümit edilmektedir (120). Özellikle statinler paraoksanaz1 (PON1) aktivitesini azaltırlar. PON1 bir homosistein metaboliti olan homosistein tiolaktone bağlanıp, onun özelliklerini değiştirerek azalmasına neden olur. Homosistein DDAH aktivitesini azaltır. Statinler PON1'i inhibe ederek, homosistein bağımlı mekanizma aracılığıyla DDAH'ı etkilerler. Yüksek ADMA konsantrasyonları, bazı hastalarda endotelial fonksiyon üzerine statinlerin olumlu etkilerini azaltabilir (120).

Rosuvastatin NADPH oksidaz enziminin supresyonu aracılığıyla oksidatif stres ve hipertansiyon gelişimini azaltır. NADPH oksidazın açığa çıkardığı oksidanları azaltarak anjiotensin 2'in neden olduğu vasküler değişiklikleri önler, NO yararlanımını artırır ve endojen vasküler antioksidan savunma mekanizmalarını uyarır (19).

1.4.2. Amlodipin

Kalsiyum kanal blokörleri güvenli ve iyi tolere edilen, hipertansiyonlu hastaların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ve aynı hasta grubunda kardiovasküler olayları ACE inhibitörleri kadar etkili şekilde inhibe eden ilaçlardır. Ca kanal blokörlerinin vazodilatasyon üzerine olan etkilerinden bağımsız olarak bir antioksidan özelliği içeren antiaterojenik özellikleri olabilir. Amlodipin'in lipit peroksit oluşumunun inhibisyonu, NO üretiminin artışı, düz kas hücre membranındaki kalınlaşmanın azalması aracılığıyla düz kas hücre aterosklerotik membran defektlerinin düzenlenmesi, LDL ve proteoglikan etkileşimi, düz kas hücre

proliferesyonu, migrasyonun inhibisyonu ve fenotipik değişiklikler gibi Ca kanal düzenlenmesinden bağımsız olarak çeşitli potansiyel antiaterosklerotik mekanizmalara etkisi bildirilmiştir (121). Amlodipin'in bu hücrel etkileri vasküler remodellingi inhibe eder. SHRSP'nin kalbinde amlodipin tarafından Cu/ZnSOD aktivitesinin düzenlenmesi, azalmış superoksit anyon konsantrasyonuna, intramyokardial arterlerin vasküler remodelling inhibisyonuna ve kardiyak fibrosise neden olabilir. Cu/ZnSOD hipertansiyonda vasküler disfonksiyonun patogeneğinde önemli bir rol oynayabilir. Amlodipin vasküler remodellingi azaltmak için eNOS'u arttırarak NO'ı koruyabilir. Amlodipin hipertansiyonda kalpte Cu/ZnSOD aktivitesini arttırarak antiaterojenik antioksidatif etkiler oluşturabilir (122).

Amlodipin kronik L-NAME almış ratların aortalarında, azalmış olan eNOS ekspresyonunu iyileştirerek, inflamasyon ve oksidatif stres ile ilişkili moleküllerin aşırı ekspresyonunu azaltır. Amlodipinin bu antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerine, ACE ekspresyonunun inhibisyonu aracı olmuştur ve bu etkileri kan basıncını düşürücü özelliklerinden bağımsız olarak gösterilmiştir (123).

Başka bir çalışmada ise, L-NAME almış ratlarda amlodipin erken inflamasyonu ve geç ateroskleroza inhibe etmesine rağmen plazma nitrojen oksitleri (NOx) düzeltmemiştir. Amlodipin koroner arterlerde L-NAME nedenli oluşan inflamatuvar değişiklikleri (MCP-1 gen ekspresyonunda artışı içeren) azaltır (122).

Kalsiyum kanal blokörlerinin, L-NAME'in neden olduğu eNOS miktarındaki azalmayı önlediği görülmüştür. Bu durum, adezyon moleküllerinin aşırı çoğalmasının önlenmesiyle ilgili olabilir (123). Amlodipin'in NADPH oksidaz overekspresyonunu etkili bir şekilde suprese etmesi antioksidan bir ajan olarak davrandığını gösterir. Ca kanal blokörlerinin L-NAME tedavisiyle artan oksidatif stresi, antioksidan sistemleri etkilemeksizin oksidatif stresin ana nedenini bloke ederek antiinflamatuvar etkiler göstermesi olasıdır. Yüksek kolesterol ile beslenen hayvanların kullanıldığı başka bir çalışmada, SOD koruması amlodipinin antiaterosklerotik etkilerinin bir mekanizması olabilir. Bir Ca kanal blokörü olan Nifedipin, SOD'ın upregülasyonu aracılığıyla antioksidan etkilerini gösterir (124).

Kalsiyum kanal blokörleri yararlı etkilerini, lokal renin anjiyotensin sistemi üzerine olan etkileri aracılığıyla kısmen gösterebilir. Ca kanal blokörleri, rat aortasında L-NAME'in neden olduğu ACE mRNA seviyelerindeki artışı önlemiştir.

Düşük doz amlodipin, L-NAME'in neden olduğu hipertansif rat aortalarında kan basıncına etki göstermezken, süperoksit üretimini suprese ettiği gibi ACE aktivitesindeki artışı önlemiştir (122). Bu bulgular Ca kanal blokörlerinin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin, lokal renin anjiotensin sistemini inhibe etmelerinden dolayı olabildiğini gösterir. Ca kanal blokörlerinin ACE ekspresyonu üzerine inhibe edici etkisi, endotelial hücre kültürlerinde de gösterilmiştir. Amlodipin'in L-NAME kullanılmış rat aortalarına 2 hafta ilavesi sonrasında inflamasyon ve oksidatif stresin önlenildiği gösterilmiştir. Amlodipin aynı vazoprotektif etkileri 1 hafta kullanımı sonrasında da göstermiştir. Bu bulgu, Ca kanal blokörlerinin antiaterojenik etkilerini zamandan bağımsız olarak gösterdiğini kanıtlamıştır (123). Ca kanal blokörlerinin antihipertansif etkileri, kardiovasküler patolojik değişiklikleri önlemelerine büyük ölçüde katkıda bulunur. Ca kanal blokörlerinin damar koruyucu etkilerine, kan basıncını düşürücü etkileri öncelikli olarak aracı olmayabilir. Bu etkilerine, eNOS ekspresyonunu arttırmasının ve ACE ekspresyonunu inhibe etmesinin aracı olduğu düşünülüyor.

Amlodipinin asetilkoline karşı gevşeme cevabında artış oluşturmaması, resistance arterlerin endotel fonksiyonlarını iyileştirdiğini göstermiştir. Amlodipinin NaNO₂'ye karşı artmış gevşeme ve fenilefrine karşı azalmış kasılma cevabı resistance arterlerin düz kas fonksiyonlarını düzelttiğini kanıtlamıştır. Amlodipinin damar koruyucu etkisi, vazodilatör ve antioksidan etkilerinden dolayı olabilir. Bu sayede, küçük arterlerde vasküler yapı ve fonksiyonları iyileştirdiği düşünülür. Amlodipin damar duvarının sitoskeletal yeniden düzenlenmesinde integrin aracılı sinyali inhibe eder ve vasküler remodellingi azaltır (125). Amlodipin tedavisinde, profilin1 fare mezenter arterlerinde α 1 β 1 integrinlerin ekspresyonunda azalma gösterilmesi, bu tedavinin vasküler remodellingi iyileştirdiğine işaret eder. Amlodipin SHR'ların düz kas hücrelerinde hipertrofiyi azaltarak ERK ½ ve JNK aktivasyonunu önler. Amlodipinin profilin 1 farelerin mezenter arterlerinde eNOS ekspresyon ve aktivitesini arttırdığı, ROCK 2 ekspresyon ve MLC₂₀ (fosforile myozin hafif zincir 20) aktivasyonunu ise azalttığı gösterilmiştir (125).

Gerilim liflerin oluşumu ve artmış kan basıncı vasküler remodelling için başlıca sebeplerdir. Amlodipin tedavisi, vasküler remodelling ile ilişkili

hipertansiyonun ilerlemesi ve gelişiminde majör rol oynadığı düşünülen F-aktin ve gerilim lif oluşumunu azaltır (125).

Kalsiyum kanal blokörleri, lökosit ROCK aktivitesini hipertansiyonlu hastalarda önemli ölçüde azaltmıştır. Antihipertansif ajanlar tarafından kan basıncındaki düşüş, direk olarak ROCK aktivitesindeki azalmayı içerebilir. Ca kanal blokörünün düzenli alınması, cGMP'nin birikimini ve salınımını arttırarak ROCK aktivitesini inhibe edebilir. Ca kanal blokörlerinin, Rho-ROCK yolağının inhibisyonu aracılığıyla vasküler rezistansı azalttıkları düşünüyor. ROCK aktivitesinin inhibisyonu hipertansiyon tedavisinin hedefi olabilir (51).

Kalsiyum kanal blokörleri voltaj bağımlı Ca kanallarını hedef alarak hipertansiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılırlar. Ca kanal blokörlerinin diğer antihipertansif ajanlardan daha az ciddi yan etkilerinin olduğuna ve kan basıncını düşürücü özellikleri açısından güvenilir ilaçlar olduklarına inanılır. Ca kanal blokörleri, afferent arteriollerde dilatasyona yol açarak glomerül filtrasyon hızında ve renal kan akımında belirgin artışa neden olurlar. Bu nedenle, sistemik kan basıncı yeterince kontrol altına alınmazsa, glomerüler hipertansiyon ve renal hasar ortaya çıkabilir (126). Ca kanal blokörleri, afferent arteriollerde anjiotensin 2'nin neden olduğu kasılmayı tersine çevirdiği halde bu antagonistlerin efferent arteriollere vazodilatör etkisi yoktur. Ca kanal blokörleri (amlodipin, nifedipin vs.) afferent arteriollerde baskın olarak bulunan L-tipi voltaj bağımlı Ca kanallarını etkilerler. Efferent arteriollere olan etkileri ise Ca kanal blokörlerinin başka etkilerine muhtemelen bağlıdır (121). T-tipi Ca kanallarını bloke etme özelliği olan bazı Ca-kanal blokörlerinin efferent arteriolleri gevşetici özelliklerinin olabileceği düşünülmüştür (127). T tipi Ca kanallarına etkili Ca kanal blokörlerinin, vasküler tonusun artışındaki inflamatuvar süreçte etkili olan rhokinaz aktivitesini önleyerek kronik böbrek hastalıklarını önleyici etkilerinin olabileceği düşünüyor. T tipi Ca kanal blokörleri, çeşitli nonhemodinamik mekanizmalar aracılığıyla inflamatuvar süreçleri ve renin-anjiotensin aldosteron sistemini suprese ederek yararlı etkiler sağlayabilir.

1.5. Çalışmanın Gerekçesi ve Amacı

Hipertansiyon gelişimi ve hedef organ hasarının azaltılmasında, NO önemli bir farmakolojik hedeftir. Uzun yıllar etkili tedavi alternatifleri olmasına rağmen artan kan basıncına bağlı organ hasarları ve toplumdaki hipertansif birey oranı artmaktadır ve hipertansiyonun kontrolü kabul edilebilir bir düzeye ulaşamamaktadır. Kan basıncı düşürücü etkiye aracılık eden hedef moleküllerin detaylandırılması ile yeni farmakolojik hedefler ileri sürülebilir ve NO'ı etkileyen ilaçların etkilerinin karşılaştırılması ile daha etkin tedavi önerilebilir.

Hipertansiyon patofizyolojisinde oksidatif stres ve endotelial işlev bozukluğunun önemli rol oynadığı görülmektedir. Statinlerin kolesterol düşürücü özelliklerine ek olarak antiinflamatuvar, antiproliferatif, antitrombotik, antiaterojenik ve antihipertansif etkileri olduğu rapor edilmiştir (5). Statinlerin reaktif oksijen üretimini azaltarak endotelial disfonksiyonu iyileştirdiği ve eNOS ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Vasküler disfonksiyonun önlenmesinde, ROS'ların oluşturduğu oksidatif stres ve inflamasyonda rosuvastatinin yararlı etkileri bilinmektedir.

Rosuvastatinin hipertansiyonda ADMA düzeyine etkisine ilişkin herhangi bir çalışma olmayıp sadece pulmoner hipertansiyonda ADMA seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Rosuvastatinin SHR'larda kaveolin-1 düzeylerini düşürdüğü tek bir çalışmada gösterilmiştir. Rosuvastatinin hipertansiyonda hsp90 seviyesine etkisine dair çalışma bizim bilgilerimize göre henüz mevcut değildir.

Amlodipinin hipertansiyonda kaveolin-1 ve hsp90 düzeyine etkisi ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Nitrik oksit sentaz inhibisyonu ve tuz yüklemesi ile oluşturulan hipertansiyonda rosuvastatin ve amlodipinin kan basıncı, rhokinaz, kaveolin-1, hsp90, NADPH oksidaz, ADMA düzeyleri ve vasküler cevaplara etkileri bizim bilgilerimize göre henüz bilinmemektedir.

Çalışmamızda NOS inhibisyonu ve tuz ile oluşturulan hipertansiyonda rosuvastatinin kan basıncı, oksidatif stres ile artan NADPH oksidaz, rhokinaz, endojen NOS inhibitörü ADMA, eNOS aktivitesini inhibe eden kaveolin-1 ve aktive eden hsp90 düzeylerinin yanı sıra phe kasılma, ach gevşeme ve anjiotensin 2 katılımını içeren vasküler cevaplara etkilerinin araştırılması ve rosuvastatinin etkilerinin klinikte antihipertansif amaçla yaygın kullanım alanı olan ve NO

biyoyararlanımına olumlu etkileri olduğu bildirilen bir ca kanal blokörü olan amlodipin ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Denekler

Bu çalışmada 220-260 gr ağırlığında Spraque-Dawley cinsi erkek ratlar (n=35) kullanıldı. Ratlar standart şartlarda (12 saat günışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, sabit ısı odalarında) kafeslerde barındırıldı.

2.2. Deney protokolü

Gruplar: Her bir grupta 7 rat olacak şekilde 5 gruba ayrıldı (n=35).

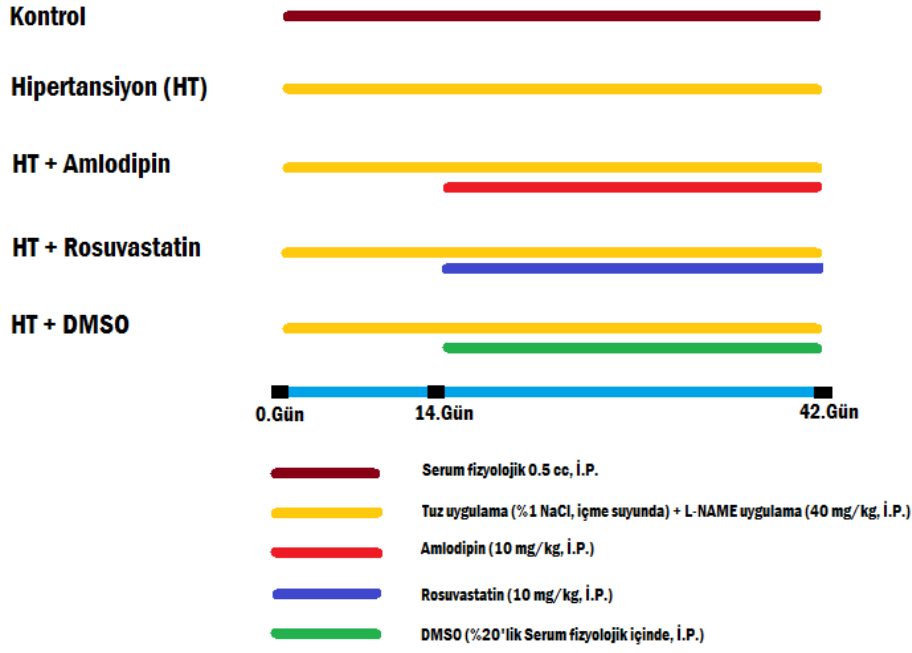
1. Grup: Kontrol: Serum fizyolojik (SF) 0,5cc/gün intraperitoneal (i.p) olarak 6 hafta boyunca verildi.

2. Grup: Hipertansiyon (HT): Ratlara 6 hafta boyunca içme suyuyla % 1 tuz ve 40 mg/kg/gün dozda L-NAME i.p olarak uygulandı.

3. Grup: HT + Rosuvastatin: Ratlara 6 hafta boyunca içme suyuyla % 1 tuz ve 40 mg/kg/gün dozda L-NAME i.p olarak verildi. 2. haftadan sonra (14. gün) rosuvastatin 10 mg/kg/gün i.p olarak 4 hafta boyunca uygulandı.

4. Grup: HT + Amlodipin: Ratlara 6 hafta boyunca içme suyuyla % 1 tuz ve 40 mg/kg/gün dozda L-NAME i.p olarak verildi. 2. haftadan sonra (14. gün) izotonik içerisinde %20'lik DMSO'da çözülmüş amlodipin 10 mg/kg/gün dozunda i.p olarak 4 hafta boyunca uygulandı.

5. Grup: HT + DMSO: Ratlara 6 hafta boyunca içme suyuyla % 1 tuz ve 40 mg/kg/gün dozda L-NAME i.p olarak verildi. 2. haftadan sonra (14.gün) izotonik içerisinde %20'lik DMSO i.p olarak 4 hafta boyunca uygulandı. Amlodipini DMSO içerisinde çözüp, ratlara uyguladığımız için kontrol amaçlı olarak DMSO hipertansif ratlara ayrı olarak verildi.



Şekil 1.Deney grupları ve ilaç uygulamaları

2.2.1. Kan basıncı ölçümleri

Bilinci açık olan ratların kan basınçları (sistolik kan basıncı) kuyruklarından indirekt tail cuff yöntemi ile ölçüldü (MAY BPHR 9610-PC TAİL-CUFF Indirect Blood Pressure Recorder, Ankara, Türkiye). Tüm gruplardaki ratların kan basınçları 0, 14, 28 ve 42. günlerde ölçüldü. Kan basıncı değerleri bilgisayara kaydedildi. Her ratın 5 ölçüm değeri alınarak ortalamaları hesaplandı.

2.2.2. Cerrahi uygulamalar

Deney bitiminde denekler dekapite edildi. Bu esnada kan örnekleri alındı. Daha sonrasında hızlı bir biçimde abdomen ve toraks orta hattın açıldı. Torasik aorta diafragmanın üst kısmından başlanarak, arkus aortaya doğru disseke edilerek çıkarıldı. Soğuk krebs solüsyonu içerisine alındı. Torasik aorta çevresel bağ ve destek dokularından titizlikle temizlenerek, arkusa yakın kısmından 4 mm boyunda halka halinde kesildi.

2.2.3. İn vitro deneyler

Hazırlanan 4 mm boyundaki torasik aort halkaları, lümeninden birbirine paralel iki paslanmaz çengel geçirilerek, içerisinde 37°C'ta ısıtılmış ve %95 O₂ + %5 CO₂ karışımı ile gazlandırılan Krebs-Ringer bikarbonat solüsyonu bulunan 20 ml'lik izole organ banyosuna asıldı. Alt çengel izole organ banyosunun alt kısmına

tutturulup, üst çengel de izometrik kasılma cevaplarını kaydetmek için force-displacement transducere (FT 0.03) bağlandı. Kayıtlar BIOPAC marka (Model MP36) poligrafla yapıldı. İzole organ banyosuna asılan torasik aorta halkaları 2 gramlık istirahat gerimi altında 1 saat boyunca dengelendi. İzole organ banyosundaki Krebs-Ringer bikarbonat solüsyonu, metabolik son ürünlerin birikimini önlemek için her 15 dakikada bir taze solüsyonla yenilendi. İn vitro torasik aort çalışmaları endotel varlığında yapıldı.

2.2.3.1. Fenilefrin (phe) kasılma cevapları

Torasik aort halkalarına artan konsantrasyonda fenilefrin (10^{-9} - 10^{-4} mol/L) uygulamasına kasılma cevapları değerlendirildi.

2.2.3.2. Asetilkolin (ach) gevşeme cevapları

Artan dozlarda fenilefrin uygulamasıyla elde edilen eğriden submaximal doz belirlendi. Sonrasında submax phe dozu ile kasılma yapıldıktan sonra artan konsantrasyonda (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) asetilkolin uygulamasıyla doz bağımlı gevşeme cevapları alındı.

2.2.3.3. AT2 reseptör rolü

AT2 reseptörlerinin rolünü belirlemek için;

-Submaksimal fenilefrin dozu ile kasılma yapıldıktan sonra artan konsantrasyonda (10^{-11} - 10^{-6} mol/L) AngII uygulamasıyla damar cevapları belirlendi.

-Fenilefrin uygulamadan 15 dk önce AT1 antagonisti losartan verilip, submaximal fenilefrin dozu ile kasılma yapıldıktan sonra anjiotensin II'nin doz bağımlı cevapları alındı.

-Fenilefrin uygulamadan 15 dk önce AT1 antagonisti losartan ve AT2 antagonisti PD123319 verilip, submaximal fenilefrin dozu ile kasılma yapıldıktan sonra anjiotensin II'nin doz bağımlı cevapları alındı.

2.2.4. Genetik analizler

Damar örnekleri etrafındaki bağ dokuları temizlendikten sonra hızlı bir şekilde RNA later solüsyonu içeren 1.5 ml'lik ependorf tüplere alındı. $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 1 gece bekletildikten sonra RNA izolasyonu yapılmaya kadar -80°C derin dondurucuda saklandı.

2.2.4.1. RNA İzolasyonu

1. Yaklaşık olarak 50-100 mg olan dokular RNA later solüsyonu içerisinde çıkartılarak kurutma kağıdı arasına alınıp hafifçe bastırılarak RNA later solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra 1 ml Trizol reaktifi içeren 1.5 ml'lik ependorf tüplere alındı ve steril çelik bilyeler kullanılarak homojenizasyon cihazında homojenize edildi.
2. Homojenize edilmiş örnekler oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. Santrifüjde 12000x g'de 2 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısım yeni tüpe transfer edildi.
3. Üzerine 0.2 ml kloroform ilave edilerek vortekslendi ve 2-3 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
4. Örnekler, 15 dakika ve +4°C'de 12000xg'de santrifüj edildi.
5. Üst faz, yeni bir tüpe transfer edildi ve üzerine 0.5 ml izopropil alkol eklendi. Örnekler, 10 dakika 15-30°C'de inkübe edildi ve +4°C'de 10 dakika 12000xg'de santrifüj edildi.
6. Süpernatant kısım tamamen uzaklaştırıldı. RNA pelleti, ilk olarak 1 ml %75'lik etanol ile yıkandı. +4°C'de 5 dakika için 7500xg'de santrifüj edildi. Bu yıkama işlemi tekrarlandı ve kalan tüm etanol uzaklaştırıldı.
7. RNA pelleti 5-10 dakika havada kurutma işlemine tabi tutuldu.
8. DNase/RNase içermeyen su ile sulandırıldı ve cDNA elde edilinceye kadar -80°C'de saklandı.

2.2.4.2. RNA Konsantrasyonunun Hesaplanması

İzolasyonu yapılan RNA'ların miktarı Qubit cihazı (Invitrogen, Carlsbad, CA) kullanılarak ölçüldü. Kontrol, HT, HT+Rosuvastatin, HT+ Amlodipin ve DMSO olmak üzere oluşturulan 5 grup için Qubit ile ölçülen değerlere göre eşitleme yapılarak 5 RNA havuzu oluşturuldu.

2.2.4.3. cDNA Sentezi

Ribo nükleik asit örneklerinden cDNA sentezi High Capacity cDNA sentez kiti kullanılarak toplam hacim 20 µl olacak şekilde gerçekleştirildi.

2.2.4.4. Real Time-PCR

Elde edilen cDNA'lar, GAPDH (Housekeeping gen), rhokinaz, NADPH oksidaz, hsp90 ve kaveolin-1 gen ekspresyonlarını araştırmak için Tag Man Ekspresyon Assay'leri (Invitrogen, Carlsbad, CA) kullanılarak, ABI Prism 7500 Fast Real Time PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA) cihazında çalışıldı. 5 gruptaki ilgili 4 genin ekspresyonları $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri kullanılarak karşılaştırıldı.

2.2.5. Serum ADMA Düzeyleri

Serum ADMA düzeylerine ELISA yöntemiyle bakıldı. Ratlardan elde edilen serum örneklerinden ADMA kiti ile ticari firmaca (Eastbiopharma, Cat No: CK-E90206, Ref: E2012 1120049, lot: 20121120) belirlenen protokol uyarınca ölçüm yapıldı.

2.3. İstatistiksel Analiz

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

2.4. Kullanılan Kimyasallar

Fenilefrin, asetilkolin, L-NAME ve amlodipin (Sigma Aldrich Inc.St. Louis, MO. A.B.D) den satın alındı. Rosuvastatin Abdi İbrahim İlaç Firmasından temin edildi.

3. BULGULAR

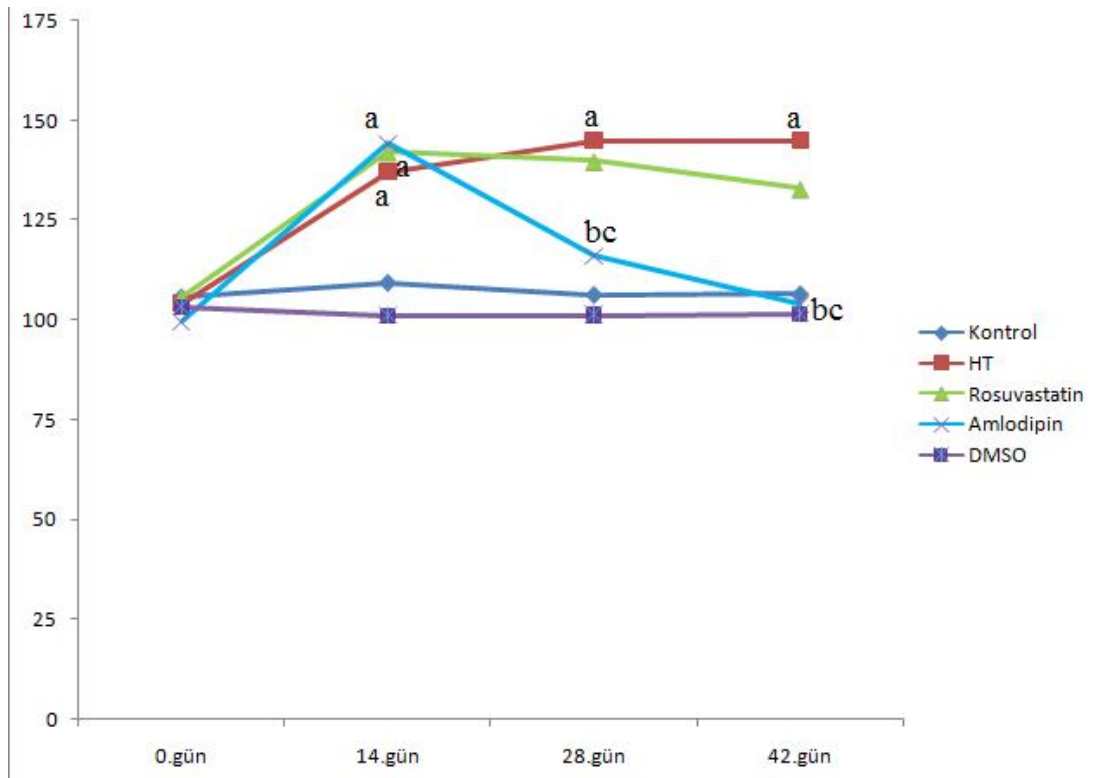
3.1. Kan basınçları

Tüm gruplarda tuz ve L-NAME uygulamasının 0, 14, 28 ve 42. günlerde sistolik kan basınçları üzerine etkisi Tablo-1 ve Şekil-2’de verilmiştir.

Tablo 1. 0, 14, 28 ve 42. günlerde kan basıncı değerleri (mmHg)

Gruplar	0.gün	14.gün	28.gün	42.gün
Kontrol	105,73±2,65	109,2±2,56	106,3±2,16	106,43
Hipertansiyon	104,14±2,70	137,3±2,43 a	145,0±1,86 a	145 a
Ht+ Amlodipin	99,51±4,73	144,2±3,09 a	116,0±2,55 bc	103,9 bc
Ht+ Rosuvastatin	105,79±3,14	142,0±1,58 a	139,6±1,48	132,78
DMSO	103,30±4,86	101,2±4,02	101,33	101,7±2,03

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a.Kontrolle göre; b. HT’ye göre; c. Ht+ Rosuvastatine göre anlamlı farklılık p<0,05.



a.Kontrolle göre; b. HT’ye göre; c. Ht+ Rosuvastatin’e göre anlamlı farklılık p<0,05.

Şekil 2. 0, 14, 28 ve 42.günlerde kan basıncı değişimleri (Kenar Çizgilerle)

3.1.1. L-NAME ve tuz uygulamasının sistolik kan basıncı üzerine etkisi

14 gün boyunca 40mg/kg/gün dozunda NOS inhibitörü (L-NAME) ve tuz uygulaması bütün gruplarda bazala göre anlamlı artışlara neden oldu. L-NAME ve tuz uygulaması sonucunda meydana gelen kan basınçları 28. günde 14. güne göre karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gözlenmedi. Aynı şekilde 42. günde ölçülen kan basınçları ile 14. ve 28. gündeki kan basınçları arasında da anlamlı farklılık oluşmamıştır. Ancak 0.günde ölçülen kan basıncı değerlerine göre 14. günde ölçülen değerler anlamlı oranda yüksekti (Tablo 1; Şekil 2).

3.1.2. Rosuvastatinin etkisi

Hipertansiyon oluşturulan ratlarda rosuvastatin uygulaması (14.günden itibaren 4 hafta boyunca, 10 mg/kg/gün) sırasında 14. güne göre 28 ve 42. günlerde anlamlı olmayan bir düşüş gözlemlendi. Bu grupta tedavi sonunda kan basıncı değerleri 0. güne göre hala anlamlı derecede yüksekti (Tablo 1; Şekil 2).

3.1.3. Amlodipinin etkisi

Hipertansiyon oluşturulan ratlarda amlodipin verilmesi (14.günden itibaren 4 hafta boyunca, 10 mg/kg/gün) sırasında 14. güne göre 28. günde anlamlı düşüş görüldü. Aynı şekilde, 42. günde 14 ve 28. günlere göre anlamlı düşüş gözlemlendi. Tedavi sonunda kan basıncı değerlerinin 0. gündeki değerlere yakın olduğu belirlendi (Tablo 1; Şekil 2) $p<0,05$.

3.2. Torasik aortada kasılma-gevşeme cevapları

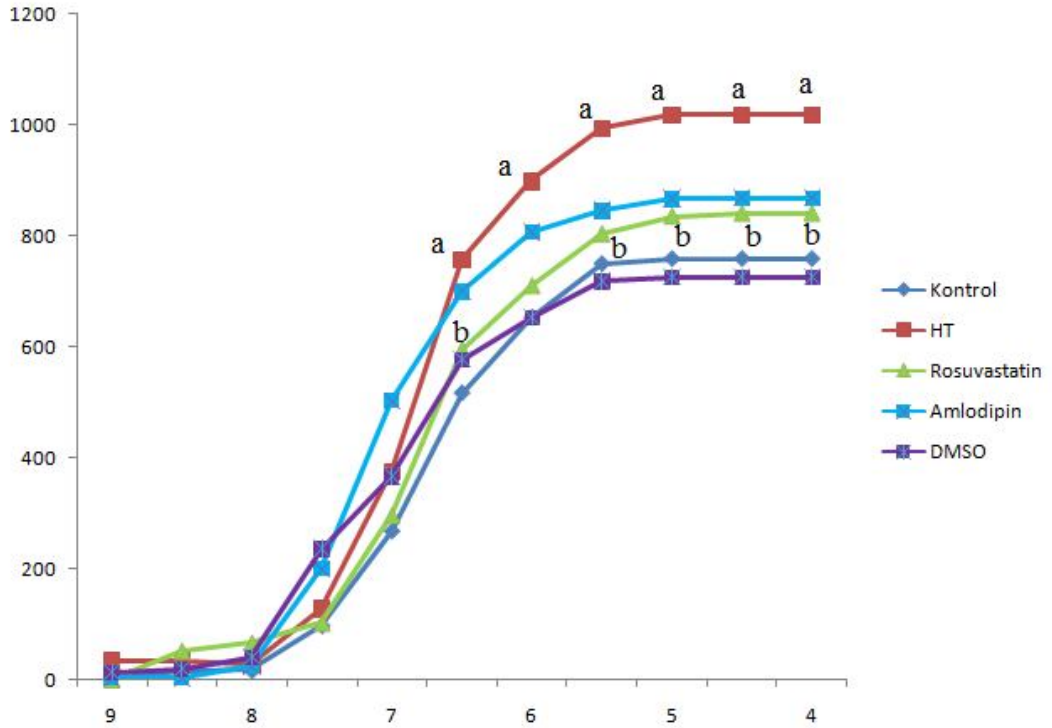
3.2.1. Fenilefrin kasılma cevapları

Fenilefrin uygulamasına karşı elde edilen torasik aorta kasılma cevaplarında HT grubunda phe $5 \cdot 10^{-7}$, 10^{-6} , $5 \cdot 10^{-6}$, 10^{-5} , $5 \cdot 10^{-5}$, 10^{-4} konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre anlamlılık gözlemlendi. HT+Rosuvastatin grubunda ise phe $5 \cdot 10^{-7}$, 10^{-6} , $5 \cdot 10^{-6}$, 10^{-5} , $5 \cdot 10^{-5}$, 10^{-4} konsantrasyonlarında hipertansiyon grubuna göre anlamlılık görüldü. Fenilefrin Emax ve EC50 değerleri arasında fark gözlenmedi (Tablo 2; Şekil 3).

Tablo 2. Fenilefrin Kasılma Cevapları (mg)

Dozlar(M/L)	Kontrol	HT	HT+Amlodipin	HT+Rosuvastatin	DMSO
10^{-9}	2,29±2,29	35,42±30,22	3,81±2,29	0±0	14,17±6,32
$5 \cdot 10^{-9}$	14,08±4,24	35,42±28,62	3,84±2,30	52,45±48,89	19,17±9,77
10^{-8}	16,29±5,89	27,93±19,28	23,65±11,44	66,76±60,57	40,37±17,71
$5 \cdot 10^{-8}$	97,19±39,14	129,3±37,03	200,4±39,88	102,3±88,68	235,9±62,40
10^{-7}	267,8±71,43	376,2±82,45	502,8±60,00	296,3±108,63	367,0±74,74
$5 \cdot 10^{-7}$	517,1±69,72	758,9±43,20 a	699,6±30,78	595,1±61,16 b	577,1±46,83
10^{-6}	653,1±52,20	899,2±51,83 a	806,0±34,90	710,1±41,59	653,7±55,10
$5 \cdot 10^{-6}$	749,9±52,54	995,5±30,32 a	844,5±43,75	803,7±27,72 b	718,5±49,14
10^{-5}	758,9±45,70	1018,5±27,75 a	865,6±35,43	835,1±37,59 b	725,3±48,64
$5 \cdot 10^{-5}$	758,9±27,09	1018,5±27,75 a	867±34,88	840,5±37,13 b	725,3±48,64
10^{-4}	758,9±36,24	1018,5±27,75 a	867±34,88	840,5±37,13 b	725,3±48,64

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a. Kontrole göre; b. HT'ye göre anlamlı farklılık p<0,05.



a. Kontrole göre; b. HT'ye göre anlamlı farklılık p<0,05.

Şekil 3. Fenilefrin Doz Cevap Eğrisi

3.2.2. Asetilkolin gevşeme cevapları

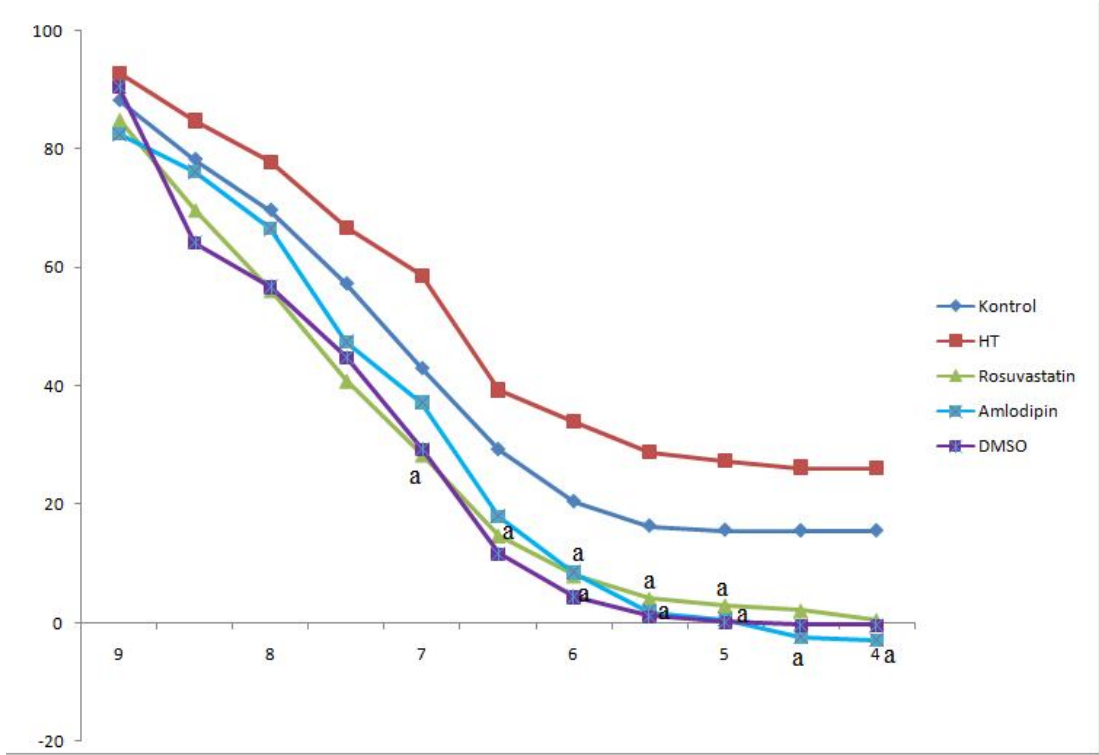
Torasik aortada submaksimal doz fenilefrin kasılması sonrası artan dozlarda asetilkolin uygulamasına gevşeme cevapları Tablo 3 ve şekil 4’de, bu değerlerden elde edilen Emax ve Ec50 değerleri Tablo 4 ve şekil 5, 6’da verilmiştir.

Uygulama sonrası HT+ Rosuvastatin grubunda ach 10^{-7} , 5.10^{-7} , 10^{-6} , 5.10^{-6} , 10^{-5} konsantrasyonlarında HT grubuna göre anlamlılık gözlemlendi. HT+ Amlodipin grubunda ise ach 10^{-6} , 5.10^{-6} , 10^{-5} , 5.10^{-5} , 10^{-4} konsantrasyonlarında HT grubuna göre anlamlılık görüldü.

Tablo 3. Asetilkolin gevşeme cevapları (% Fenilefrin kasılması)

Dozlar(M/L)	Kontrol	HT	HT+Amlodipin	HT+Rosuvastatin	DMSO
10^{-9}	11,75± 3.8	7,25± 3.1	17,56± 8.1	15,05± 6.0	9,59± 3.2
5.10^{-9}	21,72± 5.1	15,24± 3.0	23,82± 8.1	30,28± 7.1	35,81± 4.6
10^{-8}	30,31± 6.0	22,18± 2.8	33,42± 9.1	43,85± 6.1	43,34± 4.8
5.10^{-8}	42,73± 7.0	33,23± 3.3	52,62± 9.7	59,17± 5.2	55,17± 5.0
10^{-7}	57,05± 6.9	41,33± 3.0	62,84± 8.0	71,68± 4.6 a	70,69± 4.2
5.10^{-7}	70,72± 6.0	60,72± 3.1	82,04± 7.1	85,34± 3.0 a	88,32± 3.6
10^{-6}	79,53± 6.5	65,96± 2.3	91,51± 9.4 a	92,12± 1.9 a	95,59± 3.5
5.10^{-6}	83,65± 6.6	71,15± 2.4	98,14± 10 a	96,00± 1.7 a	98,97± 3.0
10^{-5}	84,35± 6.8	72,64± 2.3	99,57± 10 a	97,12± 1.7 a	99,91± 3.3
5.10^{-5}	84,47± 6.8	73,76± 2.8	1,02E+02± 12 a	98,01± 1.8	1,00E+02± 3.5
10^{-4}	84,47± 6.8	73,84± 2.8	1,03E+02± 12 a	99,63± 2.3	1,00E+02± 3.5

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a.HT’ye göre anlamlı farklılık p<0,05.



Veriler ort \pm SH olarak ifade edilmiştir. a.HT'ye göre anlamlı farklılık $p < 0,05$.

Şekil 4. Asetilkolin gevşeme cevapları

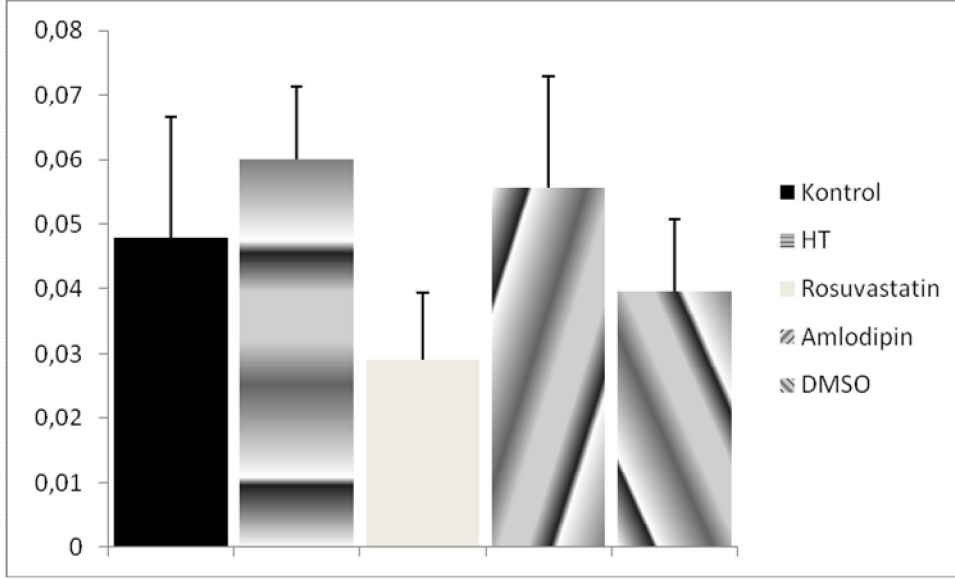
Asetilkolin uygulamasına damar gevşeme cevaplarının, rosuvastatin ve amlodipin tedavileriyle etkileşimi EC50 ve Emax değerleri üzerinden şekil 5 ve 6'da gösterilmiştir.

Şekil 5'de gösterildiği gibi 6 hafta L-NAME ve tuz uygulamasının aortik Ach gevşeme cevaplarının Ec50 değerlerinde anlamlı olmasa da artışa neden olduğu gözlemlendi. Hipertansiyon oluşturulmuş ratlara 4 hafta amlodipin tedavisi verilmesiyle, Ec50 değerlerinde hipertansiyon grubuna göre anlamlı olmayan hafif bir azalma olduğu görüldü. Rosuvastatin tedavisi uygulanmasıyla, Ec50 değerlerinde hipertansiyon grubuna göre azalma olduğu gözlemlendi. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tablo 4. Ach gevşeme cevapları Emax ve Ec50 değerleri

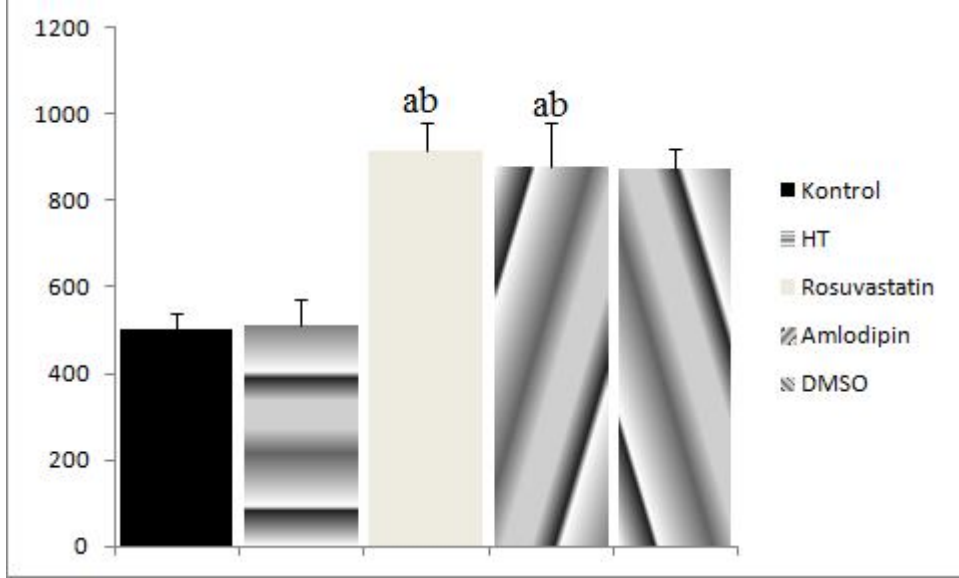
GRUPLAR	Emax (mg)	Ec50 (µM)
Kontrol	502,62± 38	0,047± 0,018
HT	513,33± 61	00,06± 0,011
HT+Amlodipin	880,33± 103 ab	0,055± 0,017
HT+Rosuvastatin	915± 66,2 ab	0,029± 0,010
DMSO	874,5± 47	0,039± 0,010

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a. Kontrol grubuna göre; b. Hipertansiyon grubuna göre anlamlı farklılık p<0,05.



Şekil 5. Ach Ec50 değerleri

Şekil 6'da Ach Emax değerleri incelendiğinde, 6 hafta L-NAME ve tuz uygulanmış olan HT grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi. Hipertansiyon oluşturulmuş ratlara 4 hafta amlodipin ve rosuvastatin tedavisi verilmesi sonucunda Emax değerlerinde kontrol ve hipertansiyon grubuna göre anlamlı artış gözlemlenmiştir (p<0,05).

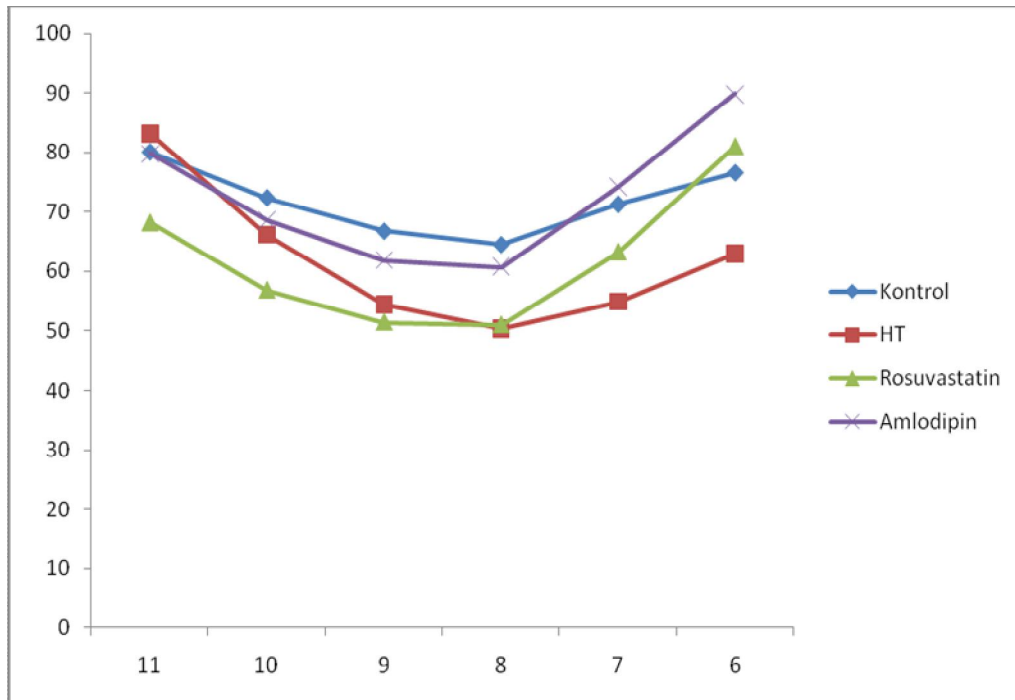


a. Kontrol grubuna göre; b. Hipertansiyon grubuna göre anlamlı farklılık $p < 0,05$.

Şekil 6. Ach gevşeme cevapları Emax değerleri

3.2.3. Phe önkasılması sonrası anjiotensin II cevapları

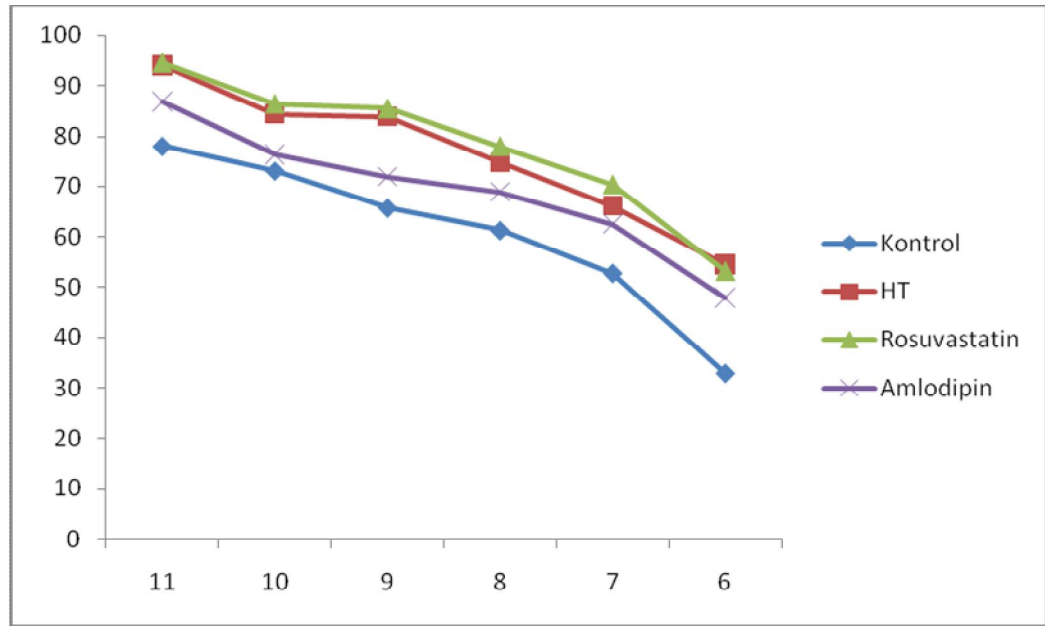
Şekil 7’de fenilefrin önkasılması sonrası artan dozlarda (10^{-11} - 10^{-6}) anjiotensin II’nin meydana getirdiği doz cevap eğrisi görülmektedir. Ang II bütün gruplarda 10^{-8} dozundan itibaren kasıcı yönde etki gösterdi. Oluşan cevaplar gruplarda benzerdi ve gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi.



Şekil 7. Phe ön kasılması sonrası anjiotensin II doz cevap eğrisi

3.2.4. Losartanlı ortamda phe önkasılması sonrası anjiotensin II'nin meydana getirdiği doz cevap eğrisi

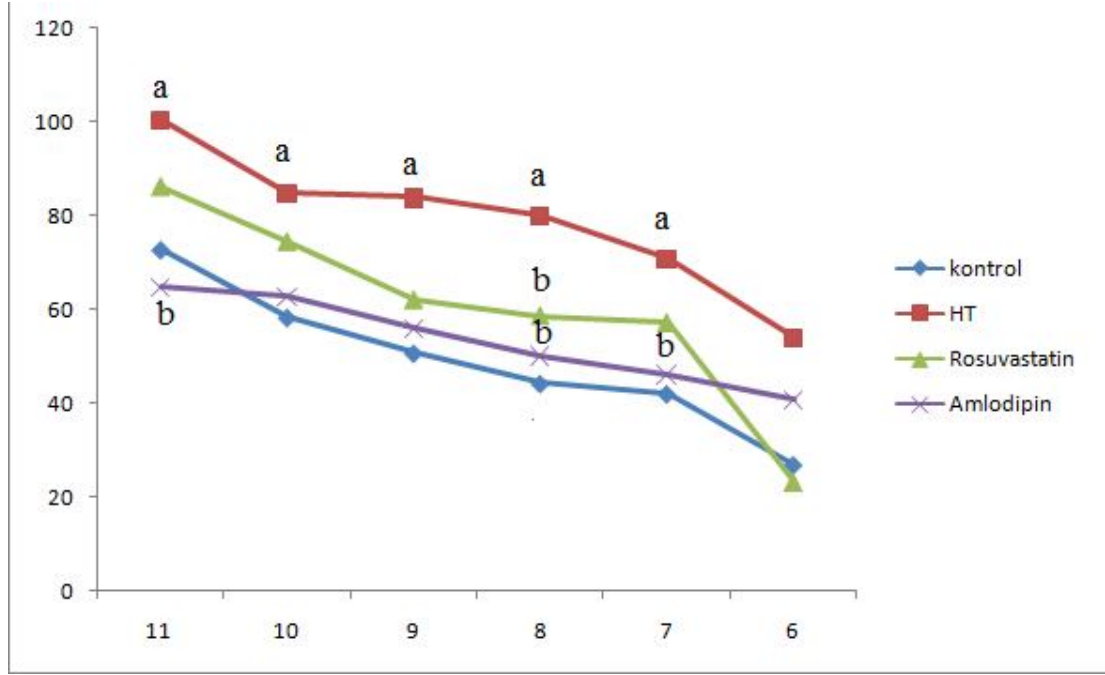
Şekil 8'de anjiotensin AT1 reseptör antagonisti losartan varlığında fenilefrin ön kasılması yapılmış damarlarda anjiotensin II'nin (10^{-11} mol/l- 10^{-6} mol/l) meydana getirdiği doz cevap eğrisi görülmektedir. Anjiotensin II damarlarda gevşeme yönünde etki gösterdi. Oluşan cevaplar bütün gruplarda benzerdi ve gruplar arası anlamlı fark gözlenmedi.



Şekil 8. Losartanlı ortamda phe önkasılması sonrası anjiotensin II doz cevap eğrisi

3.2.5. Losartan ve PD123319'lu ortamda phe önkasılması sonrası anjiotensin II doz cevap eğrisi

Şekil 9'da losartanlı ve PD123319'lu ortamda phe önkasılması yapılmış damarlarda 10^{-11} - 10^{-6} arası dozlarda anjiotensin II'nin meydana getirdiği doz cevap eğrisi görülmektedir. Damar cevaplarının bütün gruplarda benzer şekilde gevşeme eğiliminde olduğu gözlenmiştir. HT grubunda kontrol göre 10^{-11} - 10^{-7} arası dozlarda anlamlı farklılık görülmüştür. HT+Amlodipin grubunda 10^{-11} , 10^{-8} ve 10^{-7} dozlarında, HT+Rosuvastatin grubunda ise 10^{-8} dozunda HT grubuna göre anlamlı farklılık gözlenmiştir.



a. Kontrole göre; b. Hipertansiyon grubuna göre anlamlı farklılık $p < 0,05$.

Şekil 9. Losartan ve PD123319 varlığında phe ön kasılması sonrası AngII doz cevap eğrisi

3.3.Aortik dokularda gen ekspresyon çalışmaları

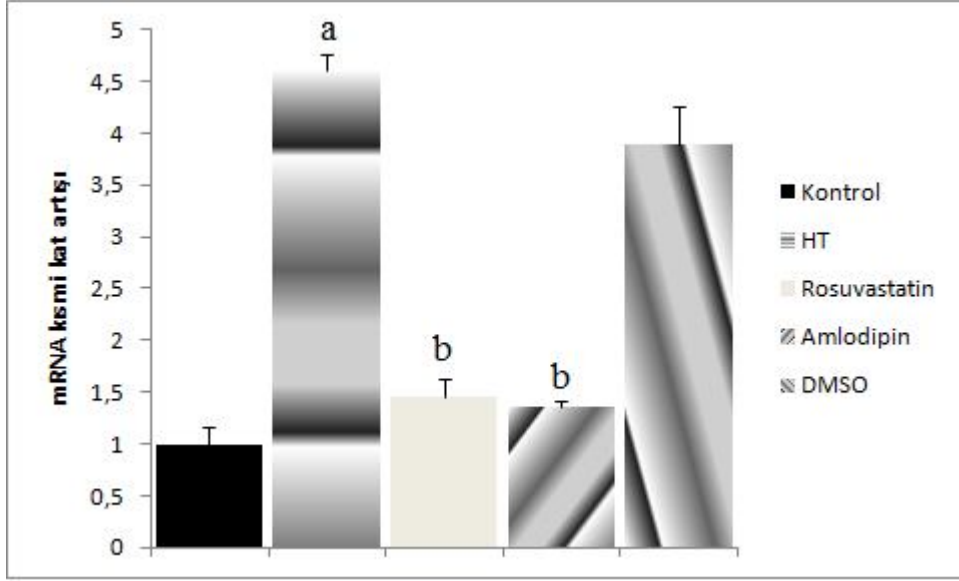
3.3.1. Rhokinaz gen ekspresyon düzeyleri

Tablo 5 ve Şekil 10'da deney gruplarında rhokinaz ekspresyon düzeyleri görülmektedir. Hipertansiyon grubunda ekspresyon düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı görüldü. Ht+Rosuvastatin ve Ht+Amlodipin gruplarının ekspresyon düzeylerinin ise hipertansiyon grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi.

Tablo 5. Rhokinaz mRNA ekspresyon düzeyleri

	Rhokinaz mRNA ekspresyon
Kontrol	1,00± 0,16
HT	4,62± 0,14 a
HT+Rosuvastatin	1,46± 0,17 b
HT+Amlodipin	1,35± 0,07 b
HT+DMSO	03,9± 0,35

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a. Kontrole göre; b. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık $p < 0,05$.



a. Kontrolle göre; b. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık $p < 0,05$.

Şekil 10. Aort dokusunda rhokinaz mRNA ekspresyon düzeyleri

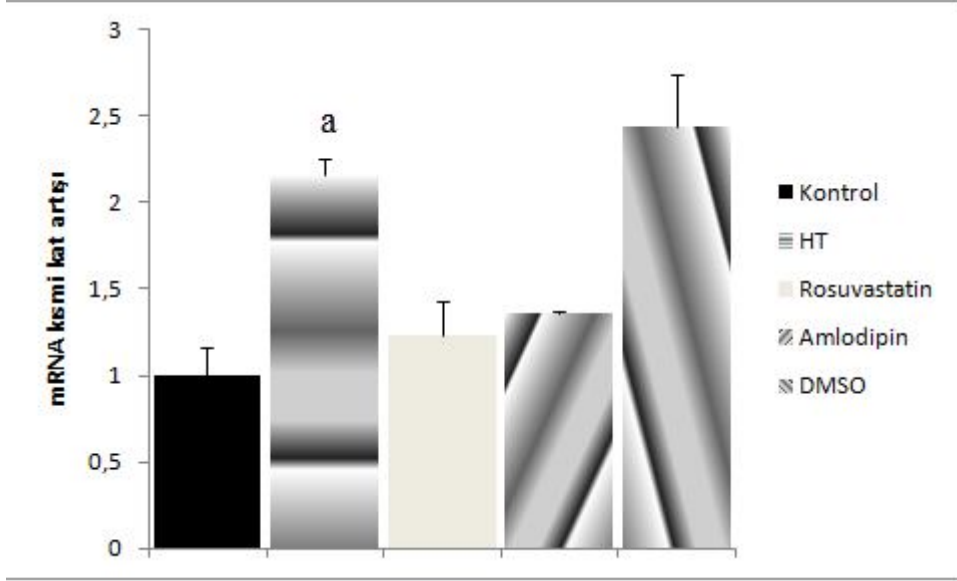
3.3.2. Kaveolin-1 gen ekspresyon düzeyleri

Kaveolin-1 mRNA ekspresyon düzeyleri Tablo 6 ve Şekil 11’de görülmektedir. Hipertansiyon grubunun ekspresyon düzeyinde kontrol grubuna göre anlamlı artış görüldü. Hipertansiyon grubuna göre Ht+Rosuvastatin grubunda ekspresyon düzeylerinin 1,23’e, Ht+Amlodipin grubunda ise 1,35’e düştüğü gözlemlendi.

Tablo 6. Kaveolin-1 mRNA ekspresyon düzeyleri

	Kaveolin-1 mRNA ekspresyon
Kontrol	1,00± 0,16
HT	2,16± 0,1 a
HT+Rosuvastatin	1,23± 0,21
HT+Amlodipin	1,35± 0,02
HT+DMSO	3,30± 0,30

Veriler ort \pm SH olarak ifade edilmiştir. a. Kontrolle göre anlamlı farklılık $p < 0,05$.



a. Kontrole göre anlamlı farklılık $p < 0,05$.

Şekil 11. Aort dokusunda kaveolin-1 mRNA ekspresyon düzeyleri

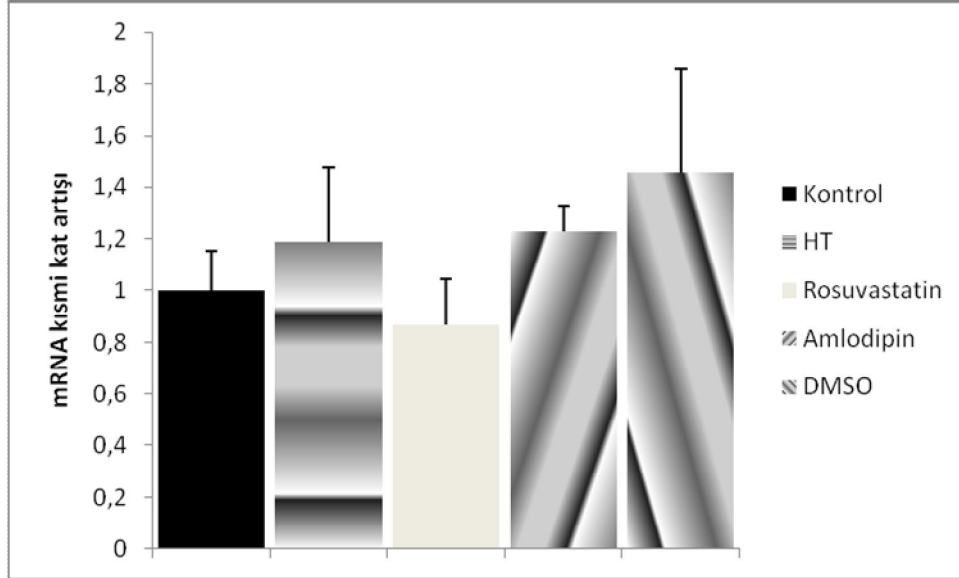
3.3.3. Hsp90 gen ekspresyon düzeyleri

Deney gruplarında hsp90 mRNA ekspresyon düzeyleri Tablo 7 ve Şekil 12’de görülmektedir. Hipertansiyon grubunun ekspresyon düzeyinde kontrol grubuna göre artış görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Hipertansiyon grubuna göre Ht+Rosuvastatin grubunda azalma eğilimi gözlemlendi. Ht+Amlodipin grubunda ise değişiklik görülmedi.

Tablo 7. Hsp90 ekspresyon düzeyleri

	Hsp90 mRNA ekspresyon
Kontrol	1,00± 0,15
HT	1,19± 0,29
HT+Rosuvastatin	0,87± 0,18
HT+Amlodipin	1,23± 0,10
HT+DMSO	1,65± 0,40

Veriler ort \pm SH olarak ifade edilmiştir.



Şekil 12. Aort dokusunda hsp90 mRNA ekspresyon düzeyleri

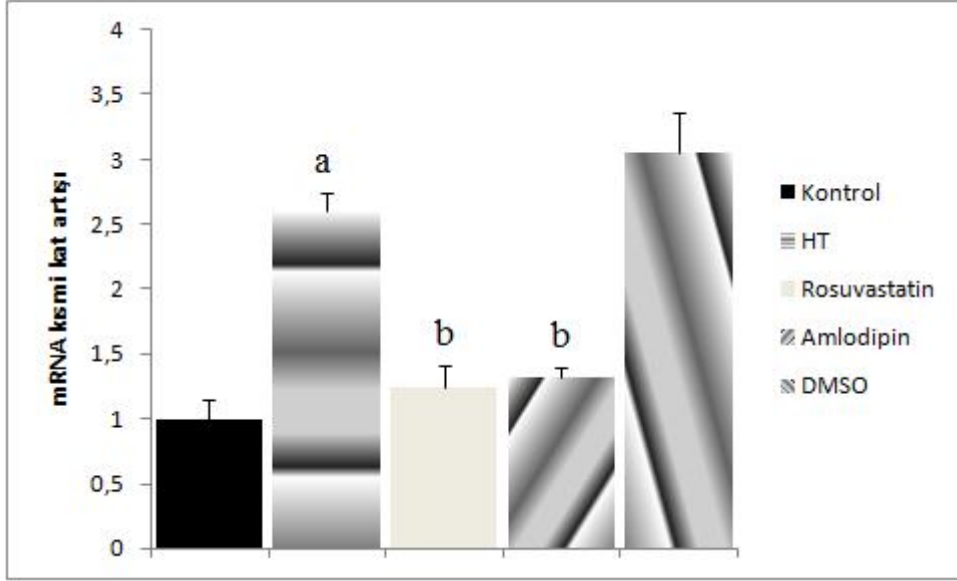
3.3.4. NADPH oksidaz gen ekspresyon düzeyleri

Tablo 8 ve Şekil 13'de NADPH oksidaz mRNA ekspresyon düzeyleri görülmektedir. Hipertansiyon grubunda ekspresyon düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, Ht+Rosuvastatin ve Ht+Amlodipin gruplarında ise hipertansiyon grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi.

Tablo 8. NADPH oksidaz ekspresyon düzeyleri

	NADPH oksidaz mRNA ekspresyon
Kontrol	1,00± 0,15
HT	2,61± 0,13 a
HT+Rosuvastatin	1,24± 0,17 b
HT+Amlodipin	1,32± 0,07 b
HT+DMSO	3,05± 0,30

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a. Kontrolle göre; b. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık p<0,05.



a. Kontrolle göre; b. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık $p < 0,05$.

Şekil 13. Aort dokusunda NADPH oksidaz mRNA ekspresyon düzeyleri

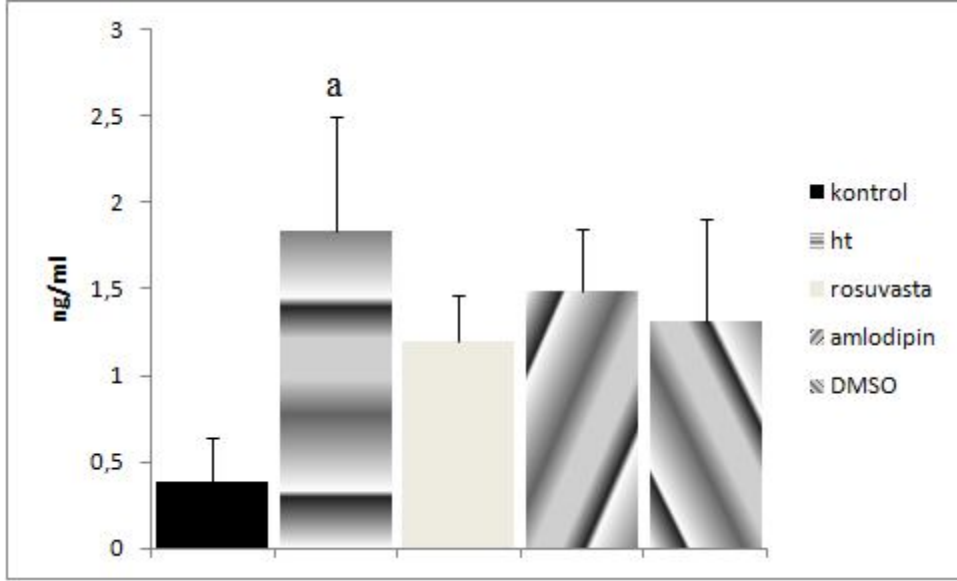
3.4. Serum ADMA düzeyleri

Şekil 14’de serum ADMA düzeyleri görülmektedir. Hipertansiyon grubunda ADMA seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ht+Rosuvastatin ve Ht+Amlodipin gruplarında hipertansiyon grubuna göre ADMA seviyelerinin azalma eğiliminde olduğu gözlenmiştir.

Tablo 9. Serum ADMA düzeyleri

	Serum ADMA düzeyleri
Kontrol	0,39± 0,25
HT	1.83± 0,66 a
HT+Rosuvastatin	1,19± 0,26
HT+Amlodipin	1,49± 0,35
HT+DMSO	1,31± 0,60

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a.Kontrolle göre anlamlı farklılık $p < 0,05$.



a.Kontrolle göre anlamlı farklılık $p<0,05$.

Şekil 14. Serum ADMA düzeyleri

4. TARTIŞMA

Çalışmamızda kan basınçları L-NAME ve tuz alan gruplarda kontrole göre 14, 28 ve 42. günlerde anlamlı olarak yüksekti. Amlodipin tedavisi kan basıncını 28 ve 42. günlerde anlamlı olarak düşürürken, rosuvastatin 42. günde anlamlı olmayan bir azalma oluşturdu. Fenilefrin kasılma cevapları, hipertansiyon grubunda Ht+Amlodipin dışındaki diğer gruplara göre $5 \cdot 10^{-7}$ dozundan itibaren anlamlı olarak yüksekti. Asetilkolin gevşeme cevaplarının ise, hipertansiyon grubuna göre Ht+Rosuvastatin grubunda 10^{-7} dozundan, Ht+Amlodipin grubunda ise 10^{-6} dozundan itibaren anlamlı olarak arttığı görüldü. Ach Ec50 değerleri hipertansif grupta yüksekti. Ach Emax değerleri hipertansif grupta düşük, tedavi alan gruplarda ise anlamlı olarak yüksek bulundu. Hipertansiyonun ADMA, NADPH oksidaz, rhokinaz ve kaveolin-1 düzeylerinde yaptığı artışı, amlodipin ve rosuvastatinin ADMA dışında engellediği görüldü. Hipertansiyon grubunda kontrol grubuna göre hsp90 ekspresyon düzeyi anlamlı olmayan bir artış gösterdi. DMSO uygulaması gruplar arasında anlamlı farklılık oluşturmadı.

L-NAME ve tuz uygulamalarının kan basıncında anlamlı farklılığa neden olup hipertansiyon oluşturduğu literatür ile uyumlu olarak (106, 128-129), çalışmamızda ratlara L-NAME+ tuz verildiğinde kan basınçlarının 14, 28 ve 42. günlerde kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı görüldü. Başka bir çalışmada, 10mg/kg dozda 8 hafta cilt altı L- NAME verilmesi sonucunda, kan basınçlarının 4. haftaya kadar anlamlı olarak yükseldiği, 5. haftada pik yaptığı ve 8. haftaya kadar arttığı belirlenmiştir (130).

Çalışmamızda L-NAME+tuz verilerek hipertansiyon oluşturulan ratlarda amlodipin uyguladığında, kan basınçlarının 42.günde anlamlı olarak düştüğü tespit edildi. Aynı doz (10mg/kg/gün) amlodipin verilen diğer bir çalışmada SHR'larda kan basınçlarının düşmüş olup, süperoksit üretiminin azaldığı gözlenmiştir (131). 6 hafta boyunca 60mg/kg/gün L-NAME verilen Sprague-Dawley cinsi erkek ratlarda da, 4 hafta 5mg/kg/gün amlodipin uygulanması sonucunda kan basınçlarının düştüğü görülmüştür (132).

Rosuvastatin verilmesi sonucunda 42. günde kan basıncında hafif bir azalma görüldü. Benzer şekilde 40mg/kg/gün L-NAME verilerek hipertansiyon oluşturulan wistar cinsi ratlara rosuvastatinin 20mg/kg/gün 5 hafta verilmesi sonucunda kan

basıncı hafif azalmıştır (133). Aynı çalışmada rosuvastatinin, L-NAME verilmesi sonucunda torasik aortada gözlenen intima ve media kalınlaşmasını ve elastik lif artışını önlediği gözlenmiştir (133). Susic D ve ark (134) yaptığı bir başka çalışmada, 12 hafta rosuvastatinin 1, 5, 10 ve 20mg/kg/gün verilmesi sonucunda SHR'larda kan basıncı düşmüştür. SHR'lara rosuvastatinin 3 hafta boyunca 10mg/kg/gün verilmesi sonucunda, tedaviye başladıktan bir hafta sonra kan basınçlarının düşmüş olduğu gözlenmiştir (135). Ancak 15mg/kg/gün L-NAME verilen wistar cinsi ratlara 20mg/kg/gün rosuvastatinin 6 hafta verilmesi sonucunda kan basıncı düşmemiştir (134). Bu farkın hipertansiyon modelinden kaynaklandığı düşünülmektedir. SHR'larda rosuvastatin kan basıncını anlamlı düşürürken, L-NAME ile hipertansiyon oluştuğunda kan basıncı anlamlı düşmemiştir. Bizim yaptığımız hipertansiyon modelinde kan basınçları anlamlı olmamakla birlikte azalmıştır.

Hipertansiyon oluşturduğumuz ratların aortalarında fenilefrin kasılma cevaplarının, kontrol grubuna göre 5.10^{-7} dozundan itibaren yüksek olduğu gözlendi. Akut olarak 100 mg i.v L-NAME uygulanmış ve 3 gün boyunca oral 60 mg /kg L-NAME verilmiş ratların aortalarında fenilefrin kasılma cevaplarının arttığı görülmüştür (136). L-NNA+tuz verilerek hipertansiyon oluşturulmuş benzer bir çalışmada da ratların aortalarında fenilefrin kasılma cevaplarının arttığı belirlenmiştir (106).

Çalışmamızda hipertansif ratların torasik aortalarında asetilkolin gevşeme cevapları açısından kontrol grubu ile anlamlı fark olmadığı görüldü. Benzer model ile hipertansif hale getirilmiş ratların kullanıldığı başka bir çalışmada, torasik aortada asetilkolin gevşeme cevapları açısından kontrol ve hipertansiyon grubu arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (137).

Amlodipin uyguladığımız grupta, fenilefrin kasılma cevaplarının hipertansiyon grubuna göre anlamlı olmasa da azaldığını, asetilkolin gevşeme cevaplarının ise 10^{-6} dozundan itibaren anlamlı olarak arttığını görüldü. Başka bir çalışmada, 8 hafta 10mg/kg/gün amlodipin verilen SHR'ların mezenter arterlerinde, KCl ve fenilefrine karşı kasılma cevaplarının azaldığı, asetilkoline karşı gevşeme cevabının artmış olduğu gözlenmiştir (131). Bir diğer çalışmada, Dahl'ın hipertansif ratlarına 10mg/kg/gün amlodipin verilmesi sonucunda endotel bağımlı gevşeme artmıştır (138). 4 hafta içme suyu ile 5mg/100ml amlodipin tedavisi alan profilin 1

transjenik hipertansif farelerde asetilkolin ve sodyum nitrite gevşeme cevabının arttığı ve fenilefrine kasılma cevabının azaldığı görülmüştür (125). Ancak, SHR'larla ilgili yapılan diğer iki çalışmada ise, 10mg/kg/gün amlodipin uygulanması sonucunda kan basıncında düşüş olduğu halde, amlodipinin mezenter resistance arterlerde asetilkolin ve bradikininin neden olduğu gevşemeyi ve SNP'e gevşeme cevabını etkilemediği gözlenmiştir (139). Amlodipin SHR'ların torasik aortlarında asetilkoline cevap olarak gevşemedeki bozulmayı ve endotelden eNOS protein ekspresyonunu etkilememiştir (140).

Rosuvastatin uyguladığımız ratların aortlarında fenilefrin kasılma cevaplarının hipertansiyon grubuna göre 5.10^{-7} dozundan itibaren anlamlı olarak azaldığı, asetilkolin gevşeme cevaplarının ise 10^{-7} dozundan itibaren anlamlı olarak arttığı görülmüştür. SHR'lara 8 hafta boyunca 10mg/kg/gün rosuvastatin uygulanan bir başka çalışmada, 10^{-9} - 10^{-6} M doz aralığındaki asetilkoline gevşeme cevabının, rosuvastatin grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak daha fazla olduğu gözlenmiştir (5).

Yaptığımız çalışmada, hipertansif ratların aort dokusunda rhokinaz ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı görülmüştür. SHR'larda yapılan bir çalışmada, rhokinaz aktivitesinin aort dokusunda artmış olduğu gözlenmiştir (141). Kataoka ve ark (142) yaptıkları çalışmada, 4 hafta boyunca içme suyuyla L-NAME verilmesi sonucunda Rho/Rhokinaz aktivitesinin arttığını göstermişlerdir. SHR'larda Rho/RhoA translokasyonunun vasküler düz kas hücrelerinde iki kat arttığı görülmüştür (143). Bu çalışmalar bizim bulgularımızı desteklemektedir.

Amlodipin uyguladığımız grupta, hipertansiyon grubuna göre rhokinaz ekspresyon seviyelerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü. 4 hafta içme suyu ile 5mg/100ml amlodipin tedavisi alan profillin 1 transjenik hipertansif farelerin mezenter arterlerinde de ROCK 2 ekspresyonunun azaldığı belirlenmiştir (125). Amlodipin tedavisinin hipertansiyon hastalarında lökosit ROCK aktivitesini azalttığı gözlenmiştir (51).

Çalışmamızda rosuvastatin uygulanan grubun torasik aort dokusunda, hipertansiyon grubuna göre rhokinaz ekspresyon düzeylerinin anlamlı olarak düştüğü görüldü. Sprague-Dawley cinsi erkek ratlarda CRP'nin neden olduğu hipertansiyon

sonucunda, rosuvastatinin 10mg/kg/gün 3 ay ilavesi aortada rhokinaz aktivitesini inhibe etmiştir (144). Wistar ratların düz kas hücre kültüründe, TNF α 'nın aracı olduğu rhokinaz yolağının aktivasyonunu rosuvastatinin inhibe edebildiği gözlenmiştir (145).

Yaptığımız çalışmada hipertansif ratlarda kontrol grubuna göre kaveolin-1 ekspresyon seviyelerinin anlamlı olarak arttığı gözlendi. SHR'ların kullanıldığı başka bir çalışmada da, kaveolin seviyelerinin aorta endotelyumunda arttığı belirlenmiştir (5). SHR'ların ve ACTH aracılığıyla hipertansif hale getirilmiş ratların safen arter endotel ve düz kas hücrelerinde caveolin-1 protein ekspresyonunun artmış olduğu görülmüştür (10).

Amlodipin uyguladığımız grubun aort dokusunda hipertansiyon grubuna göre kaveolin-1 ekspresyon seviyelerinde anlamlı olmayan bir azalma görüldü. Sharma ve ark (146) yaptığı bir hücre kültürü çalışmasında ise, amlodipinin konsantrasyon bağımlı bir biçimde eNOS'un kaveolin-1'e bağlanmasını önleyerek, eNOS-kaveolin-1 sinyal kompleksine antagonist etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Amlodipinin referans ilaç olarak kullanıldığı başka bir çalışmada, kaveolin-1 knock out farelere 6mg/kg/gün 3 hafta verilmesi sonucunda kan basıncını düşürdüğü belirlenmiştir (147).

Rosuvastatin uyguladığımız grupta, hipertansiyon grubuna göre kaveolin-1 ekspresyon düzeylerinde anlamlı olmayan bir azalma gözlendi. 8 hafta 10mg/kg/gün rosuvastatin ile tedavi edilen SHR'ların aortasında kaveolin-1 protein ekspresyonunun anlamlı olarak azaldığı görülmüştür (5). Rosuvastatinin apo E $^{-/-}$ dislipidemik farelerde caveolin-1 ekspresyonunu azalttığı, NOS fonksiyonunu arttırdığı ve aynı zamanda kan basıncı ve kalp hızını düzenlediği bulunmuştur (111). HMG-CoA redüktaz inhibitörü atorvastatin, aort endotelinde kaveolin-1'in ekspresyonunu azaltarak eNOS aktivitesi arttırmıştır. Bu etki, hipertansiyonlu hastalarda kardiovasküler sonuçları olumlu yönde etkileyebilir (148).

Çalışmamızda hipertansif ratların torasik aort dokusunda, kontrol grubuna göre hsp90 ekspresyon seviyelerinde anlamlı olmayan bir artış görüldü. 40mg/kg/gün L-NAME verilerek hipertansiyon oluşturulmuş bir başka çalışmada ise, ratların aortasında hsp90 düzeylerinin artma eğiliminde olduğu görülmüştür (137). Amlodipin tedavisi alan grupta hipertansif gruba göre hsp90 düzeyleri

etkilenmemiştir. Rosuvastatin tedavisi alan grupta ise hsp90 düzeyleri hipertansiyon grubuna göre azalma eğilimi göstermiştir. Bu modelde rosuvastatin ve amlodipinin hsp90 düzeylerine ait herhangi bir çalışma yapılmamış olup, bu parametreye etkileri ilk kez bizim çalışmamızda bulunmuştur.

Yaptığımız çalışmada, hipertansif ratlarda NADPH oksidaz ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı arttığı görülmüştür. Başka yapılan çalışmalarda hipertansiyon ve oksidatif stresle ilişkili hastalıklarda NADPH oksidaz seviyelerinde artış gözlenmiştir (81). Benzer bir çalışmada iki hafta içme suyuyla L-NAME uygulanması sonucunda, aortada NADPH oksidaz seviyelerinin arttığı belirlenmiştir (123).

Amlodipin tedavisi verdiğimiz hipertansif ratlarda NADPH oksidaz ekspresyonunun anlamlı biçimde azaldığı gözlemlendi. Toba ve ark (123) yaptığı bir çalışmada, L-NAME verilerek hipertansiyon oluşturulan ratlara 2 hafta 20mg/kg/gün amlodipin verilmesi sonucunda aortada eNOS ekspresyonu artmış, NADPH oksidaz ve ACE ekspresyonu azalmıştır. 6 hafta boyunca 60mg/kg/gün L-NAME verilen Sprague-Dawley cinsi erkek ratlara 4 hafta 5mg/kg/gün amlodipin uygulanması sonucunda kan basıncının düştüğü, sol ventrikülde NOS aktivitesinin ve eNOS mRNA ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir (132).

Çalışmamızda rosuvastatin uygulanan grubun torasik aort dokusunda, hipertansiyon grubuna göre NADPH oksidaz ekspresyon seviyelerinin anlamlı olarak düştüğü gözlemlendi. Sicard ve ark (135) yaptıkları bir çalışmada, SHR'lara rosuvastatinin 3 hafta boyunca 10mg/kg/gün verilmesi sonucunda NADPH oksidaz düzeylerinin azaldığı görülmüştür. Rosuvastatinin Sprague-Dawley cinsi erkek ratlarda 10mg/kg/gün 3 ay ilavesi sonucunda, NADPH oksidaz subunitleri down regüle olarak ROS üretimi azalmıştır (144). Rosuvastatinin NADPH oksidazı azaltarak, eNOS ayrılmasını suprese, antioksidan enzimatik savunma mekanizmalarını upregüle ederek ve hidrojen peroksitin aracı olduğu DNA hasarını inhibe ederek oksidatif stresi azalttığı gözlenmiştir (19).

Hipertansif grubun serumunda ADMA seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldiği görüldü. 40mg/kg/gün L-NAME verilerek hipertansiyon oluşturulmuş benzer bir çalışmada, hipertansif ratlarda ADMA düzeylerinin arttığı belirlenmiştir (137).

Amlodipin uyguladığımız grubun serumunda ADMA düzeylerinin değişmediği görüldü. Rosuvastatin grubunda ise, ADMA seviyelerinde azalma eğilimi görülmesine rağmen istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı. Sicard ve ark (149) yaptığı bir çalışmada, rosuvastatinin SHR’larda ADMA seviyesini düşürdüğü ancak normotansif WKY ratlarda düşürmediği görülmüştür. Pulmoner hipertansif ratlarda yapılan bir çalışmada, rosuvastatinin 5mg/kg/gün dozunda 14 ve 28 gün boyunca verilmesi sonucunda, DDAH 2 ekspresyonunun artmasıyla birlikte serum ADMA seviyelerinin azaldığı belirlenmiştir (150). Rosuvastatinin koroner arter hastalarında ADMA’nın zararlı etkilerini önlediği gözlenmiştir (79). Hiperkolesterolemili hastalarda 10mg/kg/gün rosuvastatinin 6 hafta boyunca verilmesi sonucunda, endotelial disfonksiyondaki düzelmeye ilişkili olarak plazma ADMA düzeylerinin önemli miktarda azaldığı görülmüştür (151).

Nitrik oksit üretimi kaveolin-1, hsp90 veya Cu/Zn superoksit dismutaz gibi diğer moleküler sistemlerdeki değişiklikler aracılığıyla artabilir (8). HMG-CoA redüktaz inhibitörleri, eNOS ile hsp90 veya Ca/CaM ‘nin etkileşimini artırarak veya kaveolin-1 ekspresyonunu deprese ederek eNOS fosforilasyonunu artırır. Böylece, eNOS aktive olur (54). Rosuvastatin’in endotel bağımlı vazodilatasyonu geliştirdiği ve bunun endotelde eNOS ekspresyonunda değişiklik olmaksızın artmış eNOS fosforilasyonu ve azalmış kaveolin-1 ekspresyonuyla ilişkili artmış NO bioyararlanımıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (5).

Statinler, NADPH oksidaz enzimini inhibe ederek, reaktif oksijen radikallerinin (ROS) üretiminin azalmasını sağlarlar. Böylelikle, ROS’un eNOS’u endotel yüzeyinden ayırması engellenir ve NO üretimi artar (152). Rho/Rhokinaz yolağı, eNOS ekspresyon ve aktivasyonu seviyesinde endotelial fonksiyonu olumsuz olarak etkileyebilir. Statınlerin neden olduğu eNOS aktivasyonu, Rho/Rhokinaz yolağının inhibisyonu ve kaveolin-1 ekspresyonundaki azalma ile bağlantılı mekanizmaları içerebilir (119).

Rosuvastatinin hipertansiyonda ADMA, hsp90 düzeyine etkisi ilk kez çalışmamızda gösterildi. Rosuvastatinin SHR’larda kaveolin-1 düzeylerini düşürdüğü tek bir çalışmada gösterilmiştir. Amlodipinin hipertansiyonda kaveolin-1 ve hsp90 düzeyine etkisi ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Nitrik oksit sentaz blokajı ve tuz yüklemesi ile oluşturulan hipertansiyonda

yukardaki tüm etkiler ilk kez gösterilmiştir.

Sonuç olarak,

Rhokinaz, NADPH oksidaz, ADMA, kaveolin-1 ve hsp90 düzeylerinin NOS inhibisyonu ve tuz uygulaması ile hipertansiyon oluşumuna katılımları tedavi planlamada önemli hedefler olabileceklerini göstermektedir.

Rosuvastatinin kan basınçlarını amlodipin kadar düşürmediği, ancak Ach Emax değerlerinin amlodipine yakın olduğu,

amlodipinin kan basıncı düşürücü etkilerine ADMA, NADPH oksidaz, rhokinaz, kaveolin-1 ve hsp90 düzeylerinin aracılık edebileceği ve

rosuvastatinin de endotelyal disfonksiyon ve oksidatif stres ile ilişkili bu parametreleri amlodipine benzer şekilde etkileyebileceği görülmüştür.

Rosuvastatinin hipertansif sıçan arterlerinde fenilefrin kasılma cevaplarını azaltıp, asetilkolin gevşeme cevaplarını arttırması, damar tonusunun düzenlenmesine ve endotelyal disfonksiyon üzerine olumlu etkilerinin olabileceğini,

Benzer şekilde rosuvastatinin kaveolin-1 ve hsp90 düzeylerini düşürmesi, eNOS aktivasyonu arttırarak NO salınımı aracılığıyla damar gevşetici etkilerinin ortaya çıkabileceğini,

Rosuvastatinin aort dokusunda rhokinaz ekspresyonunu azaltması, vasküler düz kas kasılmasında etkili olan bu yolağın inhibisyonuyla kan basıncını düşürücü yönde etkiler gösterebileceğini,

Çalışmamızda reaktif oksijen üretiminde etkili bir enzim olan ve özellikle de AngII ile aktive olan NADPH oksidaz'ın rosuvastatin tedavisi sonucunda azalması rosuvastatinin endotelde RAS kaynaklı oksidatif stresi önleyerek kardiovasküler hastalıklarda koruyucu rol alabileceğini,

Endojen NOS inhibitörü olan ve oksidatif stres ile artan ADMA'nın rosuvastatin verilmesiyle azalması, rosuvastatinin oksidatif strese karşı korunmada ADMA üzerinden de etkili olabileceğini, ADMA'nın aracılık edebileceği etkilerinde endotelyal disfonksiyonu iyileştirici etkilerine katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

5. KAYNAKLAR

1. Chiang CE, Wang TD, Li YH, Lin TH, Chien KL, Yeh HI, et al. 2010 guidelines of the Taiwan Society of Cardiology for the management of hypertension. *J Formos Med Assoc* 2010;109: 740-773.
2. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002; 360: 1903-1913.
3. Kannel WB. Risk stratification in hypertension: new insights from the Framingham Study. *Am J Hypertens* 2000;13: 3-10.
4. Rauch U, Osende JI, Chesebro JH, Fuster V, Vorchheimer DA, Harris K, et al. Statins and cardiovascular diseases: the multiple effects of lipid-lowering therapy by statins. *Atherosclerosis*. 2000;153:181-189.
5. Suh JW, Choi DJ, Chang HJ, Cho YS, Youn TJ, Chae IH, et al. HMG-CoA reductase inhibitor improves endothelial dysfunction in spontaneous hypertensive rats via down-regulation of caveolin-1 and activation of endothelial nitric oxide synthase. *J Korean Med Sci* 2010; 25:16-23.
6. Pinterova M, Kunes J, Zicha J. Altered neural and vascular mechanisms in hypertension. *Physiol Res* 2011; 60: 381-402.
7. Quest AF, Leyton L, Parraga M. Caveolins, caveolae, and lipid rafts in cellular transport, signaling, and disease. *Biochem Cell Biol* 2004; 82: 129-144.
8. Mount PF, Kemp BE, Power DA. Regulation of endothelial and myocardial NO synthesis by multi-site eNOS phosphorylation. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 42: 271-279.
9. Fulton D, Babbitt R, Zoellner S, Fontana J, Acevedo L, McCabe TJ, et al. Targeting of endothelial nitric-oxide synthase to the cytoplasmic face of the Golgi complex or plasma membrane regulates Akt- versus calcium-dependent mechanisms for nitric oxide release. *J Biol Chem* 2004; 279: 30349-30357.
10. Grayson TH, Ohms SJ, Brackenbury TD, Meaney KR, Peng K, Pittelkow YE, et al. Vascular microarray profiling in two models of hypertension identifies caveolin-1, Rgs2 and Rgs5 as antihypertensive targets. *BMC Genomics* 2007; 8: 404.

11. Musicki B, Ross AE, Champion HC, Burnett AL, Bivalacqua TJ. Posttranslational modification of constitutive nitric oxide synthase in the penis. *J Androl* 2009; 30: 352-362.
12. Pritchard KA, Ackerman AW, Gross ER, Stepp DW, Shi Y, Fontana JT, et al. Heat shock protein 90 mediates the balance of nitric oxide and superoxide anion from endothelial nitric-oxide synthase. *J Biol Chem* 2001; 276: 17621-17624.
13. Garcia-Cardena G, Fan R, Shah V, Sorrentino R, Cirino G, Papapetropoulos A, et al. Dynamic activation of endothelial nitric oxide synthase by Hsp90. *Nature* 1998 Apr 23; 392: 821-824.
14. Anderssohn M, Schwedhelm E, Luneburg N, Vasan RS, Boger RH. Asymmetric dimethylarginine as a mediator of vascular dysfunction and a marker of cardiovascular disease and mortality: an intriguing interaction with diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res* 2010; 7: 105-118.
15. Wingler K, Schmidt HH. Good stress, bad stress--the delicate balance in the vasculature. *Dtsch Arztebl Int* 2009;106: 677-684.
16. Pallosi A, Fragasso G, Piatti P, Monti LD, Setola E, Valsecchi G, et al. Effect of oral L-arginine on blood pressure and symptoms and endothelial function in patients with systemic hypertension, positive exercise tests, and normal coronary arteries. *Am J Cardiol* 2004; 93: 933-935.
17. Forstermann U. Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008; 5: 338-349.
18. Griending KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res* 2000; 86: 494-501.
19. Mahalwar R, Khanna D. Pleiotropic antioxidant potential of rosuvastatin in preventing cardiovascular disorders. *Eur J Pharmacol* 2013; 711: 57-62.
20. Sağlam K. Primer Hipertansiyon. first ed. Sağlam K, (editor). Ankara: GATA, 2003.
21. Kawada N, Moriyama T, Kitamura H, Yamamoto R, Furumatsu Y, Matsui I, et al. Towards developing new strategies to reduce the adverse side-effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin Exp Nephrol* 2012; 16: 25-29.

22. Babalik E. Hipertansiyon Patofizyolojisi. Klinik Geliflim 2005; 18: 25-32.
23. Dluhy RG, Lifton RP. Glucocorticoid-remediable aldosteronism (GRA): diagnosis, variability of phenotype and regulation of potassium homeostasis. Steroids 1995; 60: 48-51.
24. Wassmann S, Laufs U, Baumer AT, Muller K, Ahlbory K, Linz W, et al. HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normocholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species. Hypertension 2001; 37: 1450-1457.
25. Williams GH, Fisher ND, Hunt SC, Jeunemaitre X, Hopkins PN, Hollenberg NK. Effects of gender and genotype on the phenotypic expression of nonmodulating essential hypertension. Kidney Int 2000; 57: 1404-1407.
26. Ignarro LJ. Wei Lun Visiting Professorial Lecture: Nitric oxide in the regulation of vascular function: an historical overview. J Card Surg 2002; 17: 301-306.
27. Chatterjee A, Black SM, Catravas JD. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. Vascul Pharmacol 2008; 49: 134-140.
28. Schmidt TS, Alp NJ. Mechanisms for the role of tetrahydrobiopterin in endothelial function and vascular disease. Clin Sci (Lond) 2007; 113: 47-63.
29. Balakumar P, Kaur T, Singh M. Potential target sites to modulate vascular endothelial dysfunction: current perspectives and future directions. Toxicology. 2008 Mar 12; 245: 49-64.
30. Savoia C, Schiffrin EL. Vascular inflammation in hypertension and diabetes: molecular mechanisms and therapeutic interventions. Clin Sci (Lond) 2007; 112: 375-84.
31. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. Circ Res 2000; 87:840-4.
32. Kim YH, Hwang JH, Noh JR, Gang GT, Kim do H, Son HY, et al. Activation of NAD(P)H:quinone oxidoreductase ameliorates spontaneous hypertension in an animal model via modulation of eNOS activity. Cardiovasc Res 2011; 91: 519-527.

33. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine:dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1023-1030.
34. Valkonen VP, Tuomainen TP, Laaksonen R. DDAH gene and cardiovascular risk. *Vasc Med* 2005;10: 45-48.
35. Kayaalp PDSO, (editor). *Kayaalp Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 2009/09/17 (ed). Ankara: 2009.
36. Heitzer T, Brockhoff C, Mayer B, Warnholtz A, Mollnau H, Henne S, et al. Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation in chronic smokers : evidence for a dysfunctional nitric oxide synthase. *Circ Res* 2000; 86: 36-41.
37. Zhao CX, Xu X, Cui Y, Wang P, Wei X, Yang S, et al. Increased endothelial nitric-oxide synthase expression reduces hypertension and hyperinsulinemia in fructose-treated rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 328: 610-620.
38. Oess S, Icking A, Fulton D, Govers R, Muller-Esterl W. Subcellular targeting and trafficking of nitric oxide synthases. *Biochem J* 2006; 396: 401-409.
39. Blair A, Shaul PW, Yuhanna IS, Conrad PA, Smart EJ. Oxidized low density lipoprotein displaces endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) from plasmalemmal caveolae and impairs eNOS activation. *J Biol Chem* 1999; 274: 32512-32519.
40. Cosentino F, Luscher TF. Tetrahydrobiopterin and endothelial nitric oxide synthase activity. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 274-278.
41. Hong HJ, Hsiao G, Cheng TH, Yen MH. Supplementation with tetrahydrobiopterin suppresses the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2001; 38: 1044-1048.
42. Wang X, Hattori Y, Satoh H, Iwata C, Banba N, Monden T, et al. Tetrahydrobiopterin prevents endothelial dysfunction and restores adiponectin levels in rats. *Eur J Pharmacol* 2007; 555: 48-53.
43. Rubbo H, Darley-Usmar V, Freeman BA. Nitric oxide regulation of tissue free radical injury. *Chem Res Toxicol* 1996; 9: 809-820.

44. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 1996; 271: 1424-1437.
45. Peluffo G, Radi R. Biochemistry of protein tyrosine nitration in cardiovascular pathology. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 291-302.
46. Clempus RE, Griendling KK. Reactive oxygen species signaling in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2006; 71: 216-225.
47. Feron O, Dessy C, Moniotte S, Desager JP, Balligand JL. Hypercholesterolemia decreases nitric oxide production by promoting the interaction of caveolin and endothelial nitric oxide synthase. *J Clin Invest* 1999; 103: 897-905.
48. Nagumo H, Sasaki Y, Ono Y, Okamoto H, Seto M, Takuwa Y. Rho kinase inhibitor HA-1077 prevents Rho-mediated myosin phosphatase inhibition in smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 278: 57-65.
49. Wirth A. Rho kinase and hypertension. *Biochim Biophys Acta* 2010;1802: 1276-84.
50. Takemoto M, Sun J, Hiroki J, Shimokawa H, Liao JK. Rho-kinase mediates hypoxia-induced downregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2002; 106: 57-62.
51. Hata T, Soga J, Hidaka T, Idei N, Fujii Y, Fujimura N, et al. Calcium channel blocker and Rho-associated kinase activity in patients with hypertension. *J Hypertens* 2011; 29: 373-379.
52. Rothberg KG, Heuser JE, Donzell WC, Ying YS, Glenney JR, Anderson RG. Caveolin, a protein component of caveolae membrane coats. *Cell* 1992; 68: 673-682.
53. Cohen AW, Hnasko R, Schubert W, Lisanti MP. Role of caveolae and caveolins in health and disease. *Physiol Rev* 2004; 84: 1341-1379.
54. Harris MB, Blackstone MA, Sood SG, Li C, Goolsby JM, Venema VJ, et al. Acute activation and phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase by HMG-CoA reductase inhibitors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004; 287: 560-566.

55. Razani B, Engelman JA, Wang XB, Schubert W, Zhang XL, Marks CB, et al. Caveolin-1 null mice are viable but show evidence of hyperproliferative and vascular abnormalities. *J Biol Chem* 2001; 276: 38121-38138.
56. Vera R, Sanchez M, Galisteo M, Villar IC, Jimenez R, Zarzuelo A, et al. Chronic administration of genistein improves endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats: involvement of eNOS, caveolin and calmodulin expression and NADPH oxidase activity. *Clin Sci (Lond)* 2007; 112: 183-1891.
57. Dlugosova K, Mitasikova M, Bernatova I, Weismann P, Okruhlicova L. Reduced connexin-43 expression in the aorta of prehypertensive rats. *Physiol Res* 2008; 57: 23-29.
58. Looft-Wilson RC, Billaud M, Johnstone SR, Straub AC, Isakson BE. Interaction between nitric oxide signaling and gap junctions: effects on vascular function. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1818: 1895-1902.
59. Pfenniger A, Derouette JP, Verma V, Lin X, Foglia B, Coombs W, et al. Gap junction protein Cx37 interacts with endothelial nitric oxide synthase in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 827-834.
60. Dudzinski DM, Michel T. Life history of eNOS: partners and pathways. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 247-260.
61. Yu J, Bergaya S, Murata T, Alp IF, Bauer MP, Lin MI, et al. Direct evidence for the role of caveolin-1 and caveolae in mechanotransduction and remodeling of blood vessels. *J Clin Invest* 2006; 116: 1284-1291.
62. Saliez J, Bouzin C, Rath G, Ghisdal P, Desjardins F, Rezzani R, et al. Role of caveolar compartmentation in endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated relaxation: Ca²⁺ signals and gap junction function are regulated by caveolin in endothelial cells. *Circulation* 2008;117: 1065-1074.
63. Sessa WC. Regulation of endothelial derived nitric oxide in health and disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100: 15-18.
64. Venema RC, Venema VJ, Ju H, Harris MB, Snead C, Jilling T, et al. Novel complexes of guanylate cyclase with heat shock protein 90 and nitric oxide synthase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: 669-678.

65. Komatsuda A, Wakuil H, Imai H, Itoh H, Yasuda T, Miura AB. Expression of 90-kDa heat shock protein within regenerative tubular cells in a patient with acute oliguric renal failure due to malignant hypertension. *Ren Fail* 1999; 21: 113-117.
66. Piech A, Dessy C, Havaux X, Feron O, Balligand JL. Differential regulation of nitric oxide synthases and their allosteric regulators in heart and vessels of hypertensive rats. *Cardiovasc Res* 2003; 57: 456-467.
67. Ai JH, Yang Z, Qiu FZ, Zhu T. Heat shock protein 90 is responsible for hyperdynamic circulation in portal hypertensive rats. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2544-2547.
68. Zhou J, Ando H, Macova M, Dou J, Saavedra JM. Angiotensin II AT1 receptor blockade abolishes brain microvascular inflammation and heat shock protein responses in hypertensive rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005; 25: 878-886.
69. Mueller CF, Laude K, McNally JS, Harrison DG. ATVB in focus: redox mechanisms in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 274-278.
70. Forstermann U, Li H. Therapeutic effect of enhancing endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression and preventing eNOS uncoupling. *Br J Pharmacol* 2011; 164: 213-223.
71. Lambeth JD. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 181-189.
72. Sorescu D, Weiss D, Lassegue B, Clempus RE, Szocs K, Sorescu GP, et al. Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1429-1435.
73. Ginnan R, Guikema BJ, Halligan KE, Singer HA, Jourdeuil D. Regulation of smooth muscle by inducible nitric oxide synthase and NADPH oxidase in vascular proliferative diseases. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 1232-1245.
74. Sarfstein R, Gorzalczany Y, Mizrahi A, Berdichevsky Y, Molshanski-Mor S, Weinbaum C, et al. Dual role of Rac in the assembly of NADPH oxidase, tethering to the membrane and activation of p67phox: a study based on mutagenesis of p67phox-Rac1 chimeras. *J Biol Chem* 2004; 279: 16007-16016.

75. Honbou K, Minakami R, Yuzawa S, Takeya R, Suzuki NN, Kamakura S, et al. Full-length p40phox structure suggests a basis for regulation mechanism of its membrane binding. *EMBO J* 2007; 26: 1176-1186.
76. Kielstein JT, Fliser D, Veldink H. Asymmetric dimethylarginine and symmetric dimethylarginine: axis of evil or useful alliance? *Semin Dial* 2009; 22: 346-350.
77. Kielstein JT, Zoccali C. Asymmetric dimethylarginine: a novel marker of risk and a potential target for therapy in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2008; 17: 609-615.
78. Chirinos JA, David R, Bralley JA, Zea-Diaz H, Munoz-Atahualpa E, Corrales-Medina F, et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors, arterial hemodynamics, and subclinical vascular disease: the PREVENCIÓN Study. *Hypertension* 2008; 52: 1051-1059.
79. Thum T, Tsikas D, Stein S, Schultheiss M, Eigenthaler M, Anker SD, et al. Suppression of endothelial progenitor cells in human coronary artery disease by the endogenous nitric oxide synthase inhibitor asymmetric dimethylarginine. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1693-1701.
80. Meinitzer A, Seelhorst U, Wellnitz B, Halwachs-Baumann G, Boehm BO, Winkelmann BR, et al. Asymmetrical dimethylarginine independently predicts total and cardiovascular mortality in individuals with angiographic coronary artery disease (the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study). *Clin Chem* 2007; 53: 273-283.
81. Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Boger SM, Tsikas D, Frolich JC, et al. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* 2004; 109: 172-177.
82. Leiper JM. The DDAH-ADMA-NOS pathway. *Ther Drug Monit*. 2005; 27: 744-746.
83. Wang D, Strandgaard S, Iversen J, Wilcox CS. Asymmetric dimethylarginine, oxidative stress, and vascular nitric oxide synthase in essential hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009; 296: 195-200.

84. Kielstein JT, Bode-Boger SM, Frolich JC, Ritz E, Haller H, Fliser D. Asymmetric dimethylarginine, blood pressure, and renal perfusion in elderly subjects. *Circulation* 2003; 107: 1891-1895.
85. Boger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. *Circulation* 2009; 119: 1592-1600.
86. Delles C, Schneider MP, John S, Gekle M, Schmieder RE. Angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin II AT1-receptor blockade reduce the levels of asymmetrical N(G), N(G)-dimethylarginine in human essential hypertension. *Am J Hypertens* 2002; 15: 590-593.
87. Boger RH, Vallance P, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a key regulator of nitric oxide synthase. *Atheroscler Suppl* 2003; 4: 1-3.
88. Druhan LJ, Forbes SP, Pope AJ, Chen CA, Zweier JL, Cardounel AJ. Regulation of eNOS-derived superoxide by endogenous methylarginines. *Biochemistry* 2008 8; 47: 7256-7263.
89. Chen MF, Xie XM, Yang TL, Wang YJ, Zhang XH, Luo BL, et al. Role of asymmetric dimethylarginine in inflammatory reactions by angiotensin II. *J Vasc Res* 2007; 44: 391-402.
90. Cardounel AJ, Xia Y, Zweier JL. Endogenous methylarginines modulate superoxide as well as nitric oxide generation from neuronal nitric-oxide synthase: differences in the effects of monomethyl- and dimethylarginines in the presence and absence of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem* 2005; 280: 7540-7549.
91. Sakurada M, Shichiri M, Imamura M, Azuma H, Hirata Y. Nitric oxide upregulates dimethylarginine dimethylaminohydrolase-2 via cyclic GMP induction in endothelial cells. *Hypertension* 2008; 52: 903-909.
92. Teerlink T, Luo Z, Palm F, Wilcox CS. Cellular ADMA: regulation and action. *Pharmacol Res* 2009; 60: 448-460.
93. Pravenec M, Zidek V, Landa V, Kostka V, Musilova A, Kazdova L, et al. Genetic analysis of cardiovascular risk factor clustering in spontaneous hypertension. *Folia Biol (Praha)* 2000; 46: 233-240.

94. Crofton JT, Share L, Shade RE, Lee-Kwon WJ, Manning M, Sawyer WH. The importance of vasopressin in the development and maintenance of DOC-salt hypertension in the rat. *Hypertension* 1979; 1: 31-38.
95. Intengan HD, Park JB, Schiffrin EL. Blood pressure and small arteries in DOCA-salt-treated genetically AVP-deficient rats: role of endothelin. *Hypertension* 1999; 34: 907-913.
96. Zatz R, Baylis C. Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension*. 1998; 32: 958-964.
97. Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T, Palmer RM, Moncada S. Nitric oxide synthase inhibitors cause sustained, but reversible, hypertension and hindquarters vasoconstriction in Brattleboro rats. *Eur J Pharmacol* 1992; 213: 449-451.
98. Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide deficiency in the kidney: a critical link to hypertension? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 289: 913-935.
99. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension* 2003; 42: 1075-1081.
100. Araujo M, Welch WJ. Oxidative stress and nitric oxide in kidney function. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15: 72-77.
101. Guzik TJ, Korb R, Adamek-Guzik T. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 469-487.
102. Majid DS, Nishiyama A. Nitric oxide blockade enhances renal responses to superoxide dismutase inhibition in dogs. *Hypertension* 2002; 39: 293-297.
103. Majid DS, Nishiyama A, Jackson KE, Castillo A. Inhibition of nitric oxide synthase enhances superoxide activity in canine kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 287: 27-32.
104. Majid DS, Nishiyama A, Jackson KE, Castillo A. Superoxide scavenging attenuates renal responses to ANG II during nitric oxide synthase inhibition in anesthetized dogs. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288: 412-419.

105. Majid DS, Kopkan L. Nitric oxide and superoxide interactions in the kidney and their implication in the development of salt-sensitive hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34: 946-952.
106. Ilhan S, Oktar S, Sahna E, Aksulu HE. Salt and nitric oxide inhibition induced hypertension: the role of prostacycline and 8-isoprostane. *Clin Exp Hypertens* 2011; 33: 84-88.
107. Sinaiko AR, Steinberger J, Moran A, Prineas RJ, Vessby B, Basu S, et al. Relation of body mass index and insulin resistance to cardiovascular risk factors, inflammatory factors, and oxidative stress during adolescence. *Circulation* 2005; 111: 1985-1991.
108. Balakumar P, Kathuria S, Taneja G, Kalra S, Mahadevan N. Is targeting eNOS a key mechanistic insight of cardiovascular defensive potentials of statins? *J Mol Cell Cardiol* 2012; 52: 83-92.
109. Jantzen F, Konemann S, Wolff B, Barth S, Staudt A, Kroemer HK, et al. Isoprenoid depletion by statins antagonizes cytokine-induced down-regulation of endothelial nitric oxide expression and increases NO synthase activity in human umbilical vein endothelial cells. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58: 503-514.
110. Jones SP, Gibson MF, Rimmer DM, Gibson TM, Sharp BR, Lefer DJ. Direct vascular and cardioprotective effects of rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40:1172-1178.
111. Pelat M, Dessy C, Massion P, Desager JP, Feron O, Balligand JL. Rosuvastatin decreases caveolin-1 and improves nitric oxide-dependent heart rate and blood pressure variability in apolipoprotein E^{-/-} mice in vivo. *Circulation* 2003; 107:2480-6.
112. Skaletz-Rorowski A, Walsh K. Statin therapy and angiogenesis. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14: 599-603.
113. Walter DH, Dimmeler S, Zeiher AM. Effects of statins on endothelium and endothelial progenitor cell recruitment. *Semin Vasc Med* 2004; 4: 385-393.
114. Landmesser U, Engberding N, Bahlmann FH, Schaefer A, Wiencke A, Heineke A, et al. Statin-induced improvement of endothelial progenitor cell mobilization, myocardial neovascularization, left ventricular function, and survival after

- experimental myocardial infarction requires endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2004; 110: 1933-1939.
115. Laufs U, Liao JK. Isoprenoid metabolism and the pleiotropic effects of statins. *Curr Atheroscler Rep* 2003; 5: 372-378.
 116. Rikitake Y, Liao JK. Rho GTPases, statins, and nitric oxide. *Circ Res* 2005 9; 97:1232-1235.
 117. Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, Bialik A, Fulton D, Lefer DJ, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med* 2000; 6: 1004-1010.
 118. Toba H, Gomyo E, Miki S, Shimizu T, Yoshimura A, Inoue R, et al. Hyperinsulinaemia increases the gene expression of endothelial nitric oxide synthase and the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in rat aorta. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 440-447.
 119. Ming XF, Viswambharan H, Barandier C, Ruffieux J, Kaibuchi K, Rusconi S, et al. Rho GTPase/Rho kinase negatively regulates endothelial nitric oxide synthase phosphorylation through the inhibition of protein kinase B/Akt in human endothelial cells. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 8467-8477.
 120. Beltowski J, Kedra A. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. *Pharmacol Rep* 2006; 58: 159-178.
 121. Umemoto S, Tanaka M, Kawahara S, Kubo M, Umeji K, Hashimoto R, et al. Calcium antagonist reduces oxidative stress by upregulating Cu/Zn superoxide dismutase in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 2004; 27: 877-885.
 122. Kataoka C, Egashira K, Ishibashi M, Inoue S, Ni W, Hiasa K, et al. Novel anti-inflammatory actions of amlodipine in a rat model of arteriosclerosis induced by long-term inhibition of nitric oxide synthesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: 768-7674.

123. Toba H, Nakagawa Y, Miki S, Shimizu T, Yoshimura A, Inoue R, et al. Calcium channel blockades exhibit anti-inflammatory and antioxidative effects by augmentation of endothelial nitric oxide synthase and the inhibition of angiotensin converting enzyme in the N(G)-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertensive rat aorta: vasoprotective effects beyond the blood pressure-lowering effects of amlodipine and manidipine. *Hypertens Res* 2005; 28: 689-700.
124. Ago T, Kuribayashi F, Hiroaki H, Takeya R, Ito T, Kohda D, et al. Phosphorylation of p47phox directs phox homology domain from SH3 domain toward phosphoinositides, leading to phagocyte NADPH oxidase activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 4474-4479.
125. Hassona MD, Elnakish MT, Abouelnaga ZA, Alhaj M, Wani AA, Hassanain H. The effect of selective antihypertensive drugs on the vascular remodeling-associated hypertension: insights from a profilin1 transgenic mouse model. *J Cardiovasc Pharmacol* 2011; 57: 550-558.
126. Hayashi K, Homma K, Wakino S, Tokuyama H, Sugano N, Saruta T, et al. T-type Ca channel blockade as a determinant of kidney protection. *Keio J Med* 2010; 59: 84-95.
127. Ozawa Y, Hayashi K, Nagahama T, Fujiwara K, Saruta T. Effect of T-type selective calcium antagonist on renal microcirculation: studies in the isolated perfused hydronephrotic kidney. *Hypertension* 2001; 38: 343-347.
128. Salazar FJ, Alberola A, Pinilla JM, Romero JC, Quesada T. Salt-induced increase in arterial pressure during nitric oxide synthesis inhibition. *Hypertension* 1993; 22: 49-55.
129. Yamada SS, Sasaki AL, Fujihara CK, Malheiros DM, De Nucci G, Zatz R. Effect of salt intake and inhibitor dose on arterial hypertension and renal injury induced by chronic nitric oxide blockade. *Hypertension* 1996; 27: 1165-1172.
130. Husain K. Interaction of exercise training and chronic NOS inhibition on blood pressure, heart rate, NO and antioxidants in plasma of rats. *Pathophysiology* 2003; 10: 47-56.

131. He X, Zhang HL, Zhao M, Yang JL, Cheng G, Sun L, et al. Amlodipine ameliorates endothelial dysfunction in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2011; 38: 255-261.
132. Kobayashi N, Yanaka H, Tojo A, Kobayashi K, Matsuoka H. Effects of amlodipine on nitric oxide synthase mRNA expression and coronary microcirculation in prolonged nitric oxide blockade-induced hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 34: 173-181.
133. Neto-Ferreira R, Novaes Rocha V, da Silva Torres T, Mandarim-de-Lacerda CA, de Carvalho JJ. Beneficial effects of rosuvastatin on aortic adverse remodeling in nitric oxide-deficient rats. *Exp Toxicol Pathol* 2011; 63: 473-478.
134. Susic D, Varagic J, Ahn J, Slama M, Frohlich ED. Beneficial pleiotropic vascular effects of rosuvastatin in two hypertensive models. *J Am Coll Cardiol* 2003 17; 42: 1091-1097.
135. Sicard P, Lauzier B, Oudot A, Busseuil D, Collin B, Duvillard L, et al. A treatment with rosuvastatin induced a reduction of arterial pressure and a decrease of oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2005; 98: 804-808.
136. Lopez RM, Perez T, Castillo C, Castillo MC, Castillo EF. Acute intravenous injection and short-term oral administration of N(G) -nitro-L-arginine methyl ester to the rat provoke increased pressor responses to agonists and hypertension, but not inhibition of acetylcholine-induced hypotensive responses. *Fundam Clin Pharmacol* 2011; 25: 333-342.
137. Ayturan FA. NOS İnhibisyonu ve Tuz İle Oluşturulan Hipertansiyonda Melatoninin Kan Basıncı, ADMA, Rho Kinaz, NADPH-oksidad, hsp90 ve Kaveolin-1 Düzeyleri ve Vasküler Cevaplara Etkileri. Elazığ: Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, 2013.
138. Zhou MS, Jaimes EA, Rajj L. Benazepril combined with either amlodipine or hydrochlorothiazide is more effective than monotherapy for blood pressure control and prevention of end-organ injury in hypertensive Dahl rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 48: 857-861.

139. Bennett MA, Hillier C, Thurston H. Endothelium-dependent relaxation in resistance arteries from spontaneously hypertensive rats: effect of long-term treatment with perindopril, quinapril, hydralazine or amlodipine. *J Hypertens* 1996; 14: 389-397.
140. Kagota S, Tada Y, Kubota Y, Nejime N, Yamaguchi Y, Nakamura K, et al. Peroxynitrite is Involved in the dysfunction of vasorelaxation in SHR/NDmcr-cp rats, spontaneously hypertensive obese rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007; 50: 677-685.
141. Tsounapi P, Saito M, Kitatani K, Dimitriadis F, Ohmasa F, Shimizu S, et al. Fasudil improves the endothelial dysfunction in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 2012; 691: 182-189.
142. Kataoka C, Egashira K, Inoue S, Takemoto M, Ni W, Koyanagi M, et al. Important role of Rho-kinase in the pathogenesis of cardiovascular inflammation and remodeling induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats. *Hypertension* 2002; 39: 245-250.
143. Savoia C, Tabet F, Yao G, Schiffrin EL, Touyz RM. Negative regulation of RhoA/Rho kinase by angiotensin II type 2 receptor in vascular smooth muscle cells: role in angiotensin II-induced vasodilation in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2005; 23: 1037-1045.
144. Li X, Yang G, Zhao G, Wu B, Edin ML, Zeldin DC, et al. Rosuvastatin attenuates the elevation in blood pressure induced by overexpression of human C-reactive protein. *Hypertens Res* 2011; 34: 869-875.
145. Sun X, Tong H, Zhang M, Wang XH. Rosuvastatin inhibits the smooth muscle cell proliferation by targeting TNFalpha mediated Rho kinase pathway. *J Geriatr Cardiol* 2012; 9: 180-184.
146. Sharma A, Trane A, Yu C, Jasmin JF, Bernatchez P. Amlodipine increases endothelial nitric oxide release by modulating binding of native eNOS protein complex to caveolin-1. *Eur J Pharmacol* 2011; 659: 206-212.
147. Chuengsamarn S, Garza AE, Krug AW, Romero JR, Adler GK, Williams GH, et al. Direct renin inhibition modulates insulin resistance in caveolin-1-deficient mice. *Metabolism* 2013; 62: 275-281.

148. Ray KK, Cannon CP, McCabe CH, Cairns R, Tonkin AM, Sacks FM, et al. Early and late benefits of high-dose atorvastatin in patients with acute coronary syndromes: results from the PROVE IT-TIMI 22 trial. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1405-1410.
149. Sicard P, Delemasure S, Korandji C, Segueira-Le Grand A, Lauzier B, Guillard JC, et al. Anti-hypertensive effects of Rosuvastatin are associated with decreased inflammation and oxidative stress markers in hypertensive rats. *Free Radic Res* 2008; 42: 226-236.
150. Pei Y, Ma P, Wang X, Zhang W, Zhang X, Zheng P, et al. Rosuvastatin attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension via regulation of Akt/eNOS signaling and asymmetric dimethylarginine metabolism. *Eur J Pharmacol* 2011; 666: 165-172.
151. Lu TM, Ding YA, Leu HB, Yin WH, Sheu WH, Chu KM. Effect of rosuvastatin on plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2004; 94: 157-161.
152. Zhou Q, Liao JK. Rho kinase: an important mediator of atherosclerosis and vascular disease. *Curr Pharm Des* 2009;15: 3108-3115.

6. ÖZGEÇMİŞ

20.03.1979 tarihinde Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2005 yılında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 2006-2007 tarihleri arasında İskenderun Kızılay Kan Merkezi'nde, 2007-2008 tarihlerinde Elazığ 112 Komuta Kontrol Merkezi'nde, 2008-2009 tarihleri arasında ise Malatya 112 Acil Servis Hizmetleri'nde tabip olarak görev yaptım. 2009 yılı Nisan TUS sınavında başarılı olarak, 24 Ağustos 2009 tarihinde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım.