

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

BÖBREĞİN HOMEOSTATİK FONKSİYONLARINA HİPERKOLESTEROLEMİNİN ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mustafa EDREMITLIOĞLU

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

T851 /4-1

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Gülsen ÖNER

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
93.02.0122.01 proje numarası ile desteklenmiştir.

Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.

Antalya, 1996

TEŞEKKÜR

Tezimin deneysel aşamasındaki katkılarından dolayı Cerrahi Araştırma Merkezinin Teknisyeni Erol Nizamoğlu'na ve tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Yazım ve basım aşaması sırasında çok kıymetli önerileri ve yardımları nedeniyle Halil Uğur ve Turan Tat'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Giriş ve Amaç	1-4
Genel Bilgiler	5-25
Gereçler ve Yöntem	26-31
Bulgular	32-51
Tartışma	52-58
Özet	59
Summary	60-61
Kaynaklar	62-74

GİRİŞ ve AMAÇ

Organ ve dokuların perfüzyonunun sağlanmasında kan basıncının dar sınırlar içinde sabit tutulması çok önemlidir. Bu nedenle organizmada kan basıncının düzenlenmesi birden fazla sistemle kontrol edilmektedir. Bu düzenleme mekanizmaları arasında böbreğin yeri ayrıcalıklıdır, çünkü böbrek kan basıncında akut olmayan ve diğer düzenleme mekanizmaları ile düzeltilemeyen kan basıncı değişikliklerini düzeltmek amacı ile devreye girer ve kan basıncını düzeltici etkisi %100 dür. Böbrek ile sistemik arter basıncı arasında iki yönden yakın ilişki bulunur. Bunlardan birincisi, kan basıncındaki değişiklikler sonucu böbrek fonksiyonlarının değişmesidir ki konumuzun dışındadır. İkinci ve daha önemli olan ilişki ise kan basıncının normal sınırlar dışına çıkmasının böbrekler tarafından önlenmesidir. Bu düzenleme “Renin-angiotensin sistemi” adı verilen ve son ürünü angiotensin II olan bir sistem aracılığı ile yapılmaktadır (50).

Angiotensin II (ANG II) bilinen en kuvvetli vazokonstrüktör maddelerden birisi ve aynı zamanda kuvvetli bir aldosteron uyarıcısıdır (67). Aşağıda ayrıntıları ile incelenen çeşitli uyaranlara yanıt olarak aktive olan renin-angiotensin sistemi kendisinden beklenen fonksiyonu iki enzim aracılığı ile sürdürür. Bu enzimlerden ilki böbreklerde sentezlenen ve proteolitik bir enzim olan renindir (25, 67). Karaciğerde sentezlenerek dolaşıma verilen bir α 2 globulini, bir decapeptit olan anjiotensin I'e (ANG I) dönüştürür(67). Diğer enzim ise temel olarak pulmoner endotelde bulunmakla birlikte diğer dokularda da yaygın dağılım gösteren (63, 107) “angiotensin converting enzyme” (ACE) dir. Bu sonuncu enzimin etkisi ile ANG I'den ANG II oluşur. Bu özetlemeden de anlaşılacağı gibi böbreğin kan basıncının düzenlenmesindeki katkısı renin salgısı üzerinden gerçekleşir ve bunu “juxtaglomerüler apparatus” denen hücre kümesi aracılığı ile yapar.

Böbrekler arter basıncını Poiseulle formülüne göre ($Q=\pi(P_1-P_2)r^4/8\eta L$) hem damar direncinde hemde kan volümünde değişiklik yaparak düzenlemektedirler. Arter basıncı yükseldiğinde, böbrekler su ve tuz kaybına neden olarak hücre dışı sıvı hacmini azaltırken, basıncın düştüğü durumlarda su ve tuz kaybını önleyerek hücre dışı sıvı hacmini arttırmırlar ve böylece kan basıncını normale döndürmeye çalışırlar. Böbreklerin vücut sıvı miktarı üzerinden kan basıncını düzenlemeleri verimi %100 olan bir ayarlama mekanizmasıdır. Düşen kan basıncının normale çevrilmesinde böbrekler bir yandan su ve tuz tutulumu ile vücut sıvı hacmini arttırırken, diğer yandan da renin salgısını, dolayısıyla periferik direnci değiştirerek kan basıncını normale çevirmeye çalışırlar. Böbreklerden salgılanan renin genel dolaşıma geçmeden, böbrek dokusu içinde lokal ANG II yapımını sağlayarak glomerüler filtrasyon hızını değiştirmek suretiyle (otoregülasyon) kısa sürede su ve tuz tutulumunu periferik dirençte herhangi bir değişiklik yapmaksızın düzenleyebileceği gibi (14, 15, 68, 92), dolaşıma geçerek kan ANG II düzeyinde artışa neden olur. Artmış olan ANG II hem sistemik vazokonstrüktör etki ile vasküler direnci arttırarak hem de böbrek üstü korteksinden aldosteron salgılatıp volüm değişikliğini de devreye sokarak kan basıncı düzenlenmesine uzun süreli katkıda bulunur.

Buraya kadar özetlenenlerden böbreklerin, arter basıncının düzenlenmesinde hem hedef organ, hem de bazı pressör maddelerin salgılayıcısı olarak rol aldığı ve bu fonksiyonu hücre dışı sıvının miktar ve bileşimini sabit tutarak yaptığı anlaşılmaktadır. Organizmanın homeostatik dengesinin korunmasında çok büyük öneme sahip olan hücre dışı sıvı hacminin ve bileşiminin korunması yani kan basıncının hassas bir şekilde düzenlenmesi ancak böbreklerin fonksiyonlarını çok iyi yapması ile mümkündür. Bu nedenle kan basıncı düzenlenmesi hücre düzeyinde ele alındığında, böbrek hücre fonksiyonlarının fizyolojik sınırlarda olmasının önemi ortaya çıkar. Bir hücrenin normal fonksiyon yapabilmesi için membran ve organellerinin koordine bir şekilde kendilerine düşen işlevleri yerine getirmesi gerekir. Dış uyaranlara cevaben hücrenin kendine düşen görevi yerine getirmesinde hücre membranının fonksiyonel bütünlüğünün önemi tartışılmaz ve bu fonksiyonel bütünlüğe etki eden en önemli faktörlerden birisi membranın

yapısındaki değişiklik nedeni ile membran akışkanlığının değişmesidir. Bu konudaki çalışmalar membran akışkanlığındaki değişikliklerin hücrenin fonksiyonlarını önemli ölçüde etkilediğini belirgin şekilde göstermektedir. Pompa görevi, iyon taşınması, sinyal iletimi gibi çok önemli fonksiyonları yerine getiren membran proteinlerinin aktiviteleri membranın akışkanlığı ile yakından ilişkilidir (81). Membranın çift katmanlı lipid tabakasının vizkozitesi eşik değerin üstüne çıktığında membran ileti hızlarının ve enzim aktivitelerinin durduğu gösterilmiştir (81). Membran akışkanlığının değişmesi halinde, hücrenin membrana dayalı fonksiyonlarının bozulduğunu gösteren yayınların sayısı hayli fazladır. Membran kolesterol/fosfolipit oranı, lesitin/sfingomyelin oranı hücre membran akışkanlığının göstergesi olarak kabul edilerek yapılan çalışmalarda plazma lipidleri, diyetin bileşimi, çeşitli ilaç ve hormonların membran akışkanlığını ve dolayısıyla hücre fonksiyonlarını etkilediği saptanmıştır (119, 133). Hiperkolesterolemi ile membran akışkanlığı arasındaki ilişkiyi inceleyen yayınlarda, plazma kolesterol artışının membran akışkanlığını azaltarak hücre fonksiyonlarını bozduğu bildirilmiştir (23).

Membran akışkanlığının temel belirleyicilerinden olan lipid bileşiminin değişmesi birçok hücrenin fonksiyonunu etkilerken jukstaglomerüler apparatus hücrelerinin membran akışkanlığının dolayısıyla fonksiyonlarının etkilenmemesi düşünülemez. Plazma kolesterol artışının membran kolesterol/fosfolipid oranı üzerinden akışkanlığı değiştirerek hücre fonksiyonlarını bozduğunu gösteren çalışmalar göz önüne alındığında, hem gelişmiş hem de az gelişmiş toplumlarda oldukça yaygın bir beslenme sorunu olan hiperkolesterolemiden diğer hücre fonksiyonlarının etkilendiği gibi jukstaglomerüler apparatus hücre fonksiyonlarının da zarar görmesi beklenir. Hiperkolesterolemi sonucunda monosit fonksiyonları (118), öğrenme (100, 121), reseptör fonksiyonları (34) ve iyon alışverişinin (23) olumsuz yönde etkilendiğini gösteren yayınlar bu görüşü pekiştirmektedir. Jukstaglomerüler hücrelerin en önemli fonksiyonu kan basıncındaki değişikliklere karşı çok duyarlı oluşları olduğuna göre bu hücrelerin işlevinin bozulması, böbreklerin kan basıncını düzenlenmedeki yeteneklerinin azalması anlamına gelecektir. Ancak,

renal pressör sistem duyarlılığının hiperkolesterolemiden nasıl etkilenebileceği oldukça ilginç bir soru olmasına karşın, bu konuyu inceleyen ve bu beklentiyi doğrulayan veya bertaraf eden herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanamamıştır. Toplumların beslenme alışkanlıklarında kolesterolden zengin besinlerin geniş yer işgal etmesi ve iskemik kalp hastalıklarında risk unsuru olarak hipertansiyon ve hiperkolesteroleminin önemi göz önüne alındığında, hiperkolesteroleminin jukstaglomerüler hücrelerde duyarlık değişikliğine neden olarak hipertansiyona zemin hazırlamasının klinik önemi olacağı kanısına ulaşılmış ve bu nedenle deneysel bir çalışma ile bu konunun incelenmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

KAN BASINCININ DÜZENLENMESİ

Yeterli perfüzyon sağlanabilmesi için birim zaman zarfında yeterli miktarda kanın kalp tarafından arter sistemine atılması gerekmektedir (kalp debisi). Kalp debisindeki azalma doku perfüzyonunun bozulmasına, dolayısıyla yeterince beslenemeyen ve metabolik artıklarından arındırılmamış bir mikroçevrede kalan hücrelerin fonksiyonlarının olumsuz etkilenmesine yol açacaktır. Birim zaman zarfında kalpten periferik dokulara gönderilen kan miktarının değişkenleri kan basıncı ve damar yatağının direncidir. Kalbin pompalama gücüne olumsuz yönde etki eden faktörlerden en önemlisi kalp tarafından damar yatağı içine gönderilen kana karşı damar yatağının uyguladığı kuvvet, yani sistemik arter basıncıdır. Arter basıncı ne kadar yüksek ise kalbin belirli miktarda kanı aorta içine gönderebilmesi için harcaması gereken kuvvet de o denli fazla olacağından kan basıncı artışları kalbi ve dolayısıyla doku perfüzyonunu olumsuz yönde etkilemektedir. Kan basıncı artışının düzenlenemediği ve kan basıncı yüksekliğinin devamlılık arzettiği koşullar yani hipertansiyon iskemik kalp hastalığı risk faktörleri arasında önemli yer işgal eder(21, 73). Kan basıncının normal tutulmasının önemi nedeni ile organizmada kan basıncını dar sınırlar içinde sabit tutmaya yönelik birden fazla kontrol sistemi vardır.

Kan basıncı çeşitli sinirsel ve hormonal kontrol sistemleri aracılığı ile düzenlenir. Bu sistemler ve birlikte çalışan lokal kontrol mekanizmaları, kalp, damarlar ve kan hacmi üzerinden etki ederek arter basıncını ve kalp atım hacmini sabit düzeyde tutabilmektedirler. Kan basıncının düzenlenmesinden sorumlu olan mekanizmaları iki başlık altında incelemek mümkündür:

1 - Kısa sürede etkili olan mekanizmalar: Bunlar saniyeler ile dakikalar arasında kan basıncında gözlenen değişiklikleri normale çeviren ve daha çok periferik direnç değişikliği üzerinden etkili olan mekanizmalardır:

- Baroreseptörler,
- Kemoreseptörler,
- Düşük basınç reseptörleri
- Merkezi sinir sisteminin iskemiye cevabı bunlar arasındadır.

2- Uzun sürede etkili olan mekanizmalar: Hem periferik direnci hem de kan hacmini kontrol ederek, saatler ile günler arasında etkili olan hormonal ve renal mekanizmalardır.

BARORESEPTÖRLER:

Karotid sinüs ve aortik arkus baroreseptör sistemleri akut kan basıncı düzenlenmesinde oldukça etkili kontrol sistemleridir. Damar duvarında serbest sinir uçları olarak yerleşmiş bulunan gerim reseptörleri, kan basıncının düzeyine göre merkezi sinir sistemine sinyaller gönderirler. Bunun karşılığında merkezi sinir sisteminden gönderilen efferent sinyaller ile kan basıncındaki gerekli değişiklikler gerçekleştirilir (Şekil 1).

Baroreseptör refleksi arteriyel basınçta ortaya çıkan değişikliklere karşı süratle yanıt verir. Sürekli basınç değişimlerinden daha çok hızlı basınç değişimleri ile uyarılırlar. Örneğin ortalama arter basıncı aniden 150 mmHg yükseldiğinde oluşan impuls sayısı, basıncın 150 mmHg'da kalmasıyla ortaya çıkan impuls sayısından iki kat daha fazladır. Baroreseptör sinyaller medulla oblongataya geldiğinde vazokonstrüktör merkez inhibe olurken, vagus merkezi uyarılır. Bunların sonucunda ortaya çıkan net etki:

1- Periferde vazodilatasyon,

2- Kalp hızı ve kasılma gücünün azalması şeklindedir. Bu etkiler sonucunda periferik direncin ve kalp debisinin azalması ile arter basıncı düşer. Kan basıncının Düştüğü hallerde ise bunun aksi etki ile, refleks yoldan kan basıncı yükseltilir. Baroreseptörler kan basıncındaki değişikliklere adapte olabilme özellikleri nedeniyle, uzun süreli kan basıncı kontrolünde etkili değillerdir.

KEMORESEPTÖRLER:

Kan basıncı kontrolünde dolaylı etki gösteren bir diğer anatomik oluşum, karotis arterinin dallanma noktasında ve aortada bulunan glomus karotikum ve glomus aortikumdur (karotid ve aortik cisimler). Kemoreseptörler, baroreseptörlerle birlikte, glossofaringeus ve vagus siniri içinde uyarıları merkeze iletirler.

Boynun her iki tarafında, karotisin dallanma noktasının yakınında, birer karotid cisim vardır. Aortik cisimler ise aort yayının yanında ve genellikle 2 veya daha fazla sayıdadır. Her glomus karotikum ve aortikum küçük bir besleyici arter aracılığı ile bol miktarda kan alır. Arteriyel basınç kritik değerin altına düştüğünde, glomusların kan akımındaki azalmadan ötürü, oksijen miktarındaki azalma ve karbondioksit ile hidrojen iyonlarının uzaklaştırılamaması kemoreseptörleri uyarmaktadır ve bu uyarıların vazomotor merkeze ulaşması arter basıncının yükselmesine neden olur. Bu mekanizma, arteriyel basınç 80 mmHg'ya düşünceye dek devreye girmediği için, normal kan basıncı düzenlenmesinde güçlü bir kontrol sistemi değildir. Daha çok solunumun düzenlenmesinde rol almaktadır.

DÜŞÜK BASINÇ RESEPTÖRLERİ:

Toraks, akciğerler, atriumlar ve ventriküllerde bulunan kardiyopulmoner reseptörler "düşük basınç reseptörleri" olarak adlandırılırlar. Kalp içinde bulunanlar kan hacminin ve kalp hızının kontrolünde, iskemik ağrının hissedilmesinde önemli role sahiptirler. Kalp boşluklarında yerleşmiş olan gerim reseptörlerine ait sinir sonlanmaları subendokardium ve subepikardiumda bulunurlar. Miyokardiumda da bu tür innervasyon bulunmakla birlikte daha az yoğunluktadır. Kalbe dönen kan hacminin artması bu reseptörlerin uyarılmasına ve sempatik sinir aktivitesinde ve vazopressin salgılanmasında inhibisyona neden olur. Bu inhibisyon periferik vazodilatasyona yol açarak direnç azalmasına, kanın periferde göllenmesine ve kalbe dönen kan miktarının azalmasına böylece kan basıncının normale inmesine sebep olur. Ayrıca sempatik sistem inhibisyonu renin salınımını da azaltacağından kan basıncı bu nedenle de dolaylı olarak inhibe olur.

MERKEZİ SİNİR SİSTEMİNİN İSKEMİYE CEVABI:

Beyin sapında bulunan vazomotor merkezi oluşturan nöronlar iskemiye aşırı duyarlıdır. Kan basıncının düşmesi sonucu beyne ulaşan kan akımı azaldığı zaman bu merkezdeki nöronlara az kan dolayısıyla az oksijen gelmesi ile nöronlar güçlü bir şekilde uyarılırlar. Böylece yoğun sempatik uyarı ortaya çıkar ve kan basıncı yükselir. Ancak kan basıncı 60 mmHg ve altına inmedikçe bu mekanizma çalışmamaktadır. Maksimal uyarı kan basıncı 15-20 mmHg'ya düştüğü zaman gözlenmektedir. Bu nedenle

normalde arter basıncını düzenleyen fizyolojik mekanizmalardan biri olarak kabul edilmemelidir.

HORMONAL MEKANİZMALAR:

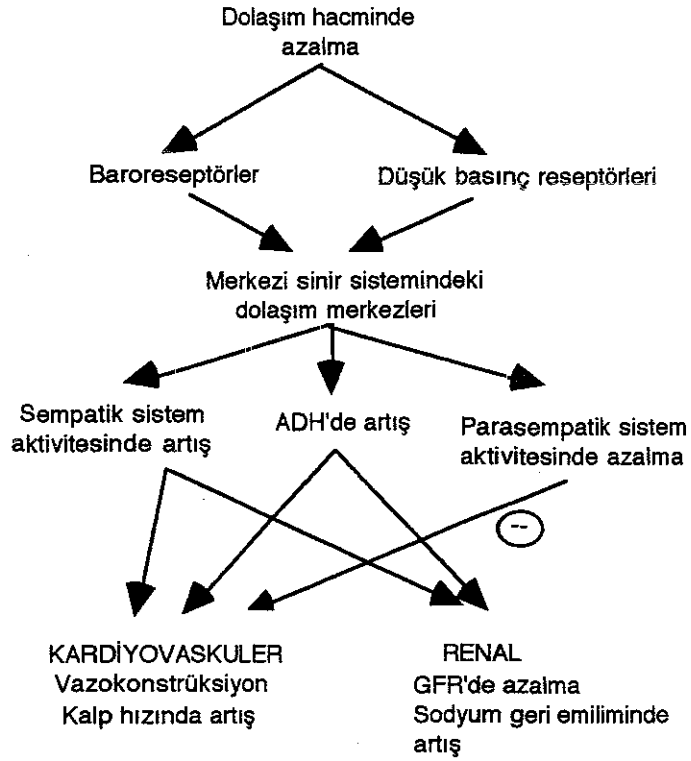
Yukarıda sözü edilen kontrol sistemleri, periferik direnç değişikliği yaparak kan basıncının düzenlenmesini sağlarlar. Arteriyel direnç ve sistemik kan basıncı, direnç damarları olarak adlandırılan, küçük arter ve arteriollerin kontrolü altındadır. Bu damarlardaki direnç; sempatik sinir sistemi, lokal metabolik ve miyojenik faktörlerin arasındaki denge tarafından belirlenir. Sempatik sinir sistemi bu damarların çapını kontrol eden en önemli mekanizmalardan birini oluşturur. Bu direnç değişikliği damardaki kan akımını ve bir dolaşım bölgesindeki kan hacmini belirler. Bu nedenle organların gereksinimlerine göre kan akımlarını değiştirme yeteneği sempatik sistemin hakimiyetine bağlı olarak bölgesel farklılıklar gösterir. Örneğin, miyokard, iskelet kası, splanknik dolaşım ve deri, direnç değişikliği üzerinden gerektiğinde kan akımlarını 3-4 kat arttırabilirler. Buna karşın, beyin dolaşımı sinirsel düzenlemeye daha az duyarlıdır.

Böbrekler kan basıncının düzenlenmesinde hem vasküler direnci hem de kan hacmini değiştirerek %100'e varan düzeltme sağlarlar. Bu nedenle böbrekler kan basıncı düzenlenmesinde en önemli görevi üstlenmiş olan organlardandır. Sadece vasküler sıvı hacmi dolayısıyla hücreler arası sıvı miktarı değil aynı zamanda vücut sıvılarının osmolalite ve bileşiminin de normal olması ve günlük su, tuz alımının ve atılımının dengede olması böbrekler tarafından sağlanır. Atrial düşük basınç gerim reseptörleri ve arteriyel baroreseptörler bu düzenlemeye katkıda bulunurlar. Sol atriumun akut distansiyonu diürezise neden olur (Şekil 2). Ortaya çıkan diürezisin nedenleri :

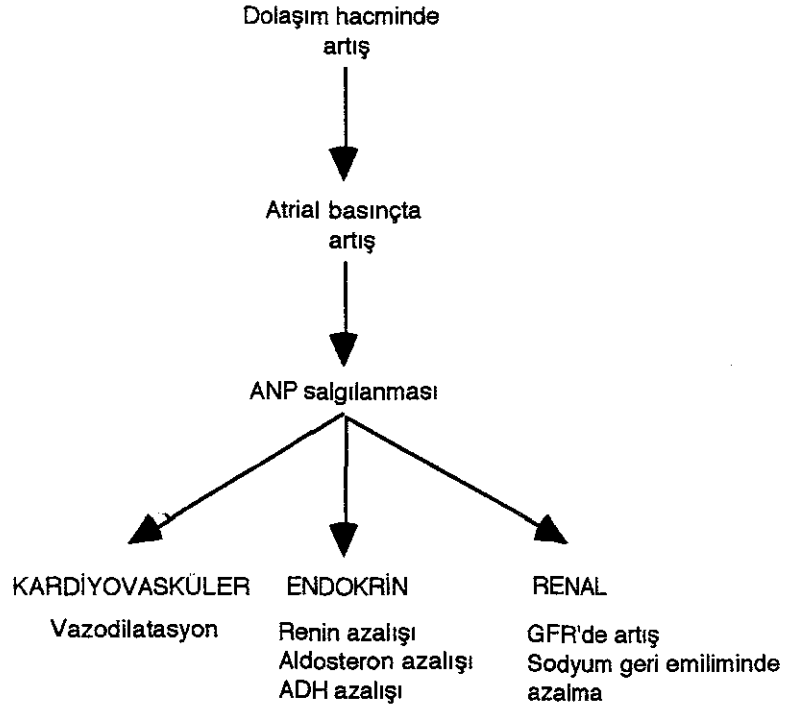
- 1- Antidiüretik hormon salgılanmasında azalma,
- 2- Renal sempatik sinir aktivitesinde azalma,
- 3- Renin salgılanmasında azalma,

4- Atrial natriüretik peptit (ANP) salgılanmasında artıştır. Böylece hem direnç hemde kan volümü azalışı ile artmış olan kan basıncı tekrar normal düzeye çevrilir. Kan hacmi her hangi bir nedenle azaldığında ise atriumlara dönen kan miktarı azalacağı için atrial gerim reseptörlerinden, aorta ve karotisteki baroreseptörlerden çıkan uyarı sayısı azalır. Böylece sempatik

sistem üzerindeki baskı azalır ve sempatik aktivasyon artarken atrial reseptörlerden gelen uyarıların azalması da ADH salgılanmasına neden olur. Sonuç olarak periferik vazokonstriksiyona, böbreklerden su geri emilimindeki artış eşlik eder. Artmış renal sempatik aktivite afferent arteriol konstrüksiyonuna ve glomerüler filtrasyon hızının azalmasına granüler hücrelerden renin sekresyonunun artışına da neden olur.



Şekil 1. Dolaşım hacmindeki azalmanın düzeltilme mekanizmaları.



şekil 2. Dolaşım hacmindeki artışın dñzenlenme mekanizmaları.

RENİN-ANJİOTENSİN SİSTEMİ

Renin-anjiotensin sistemi (RAS) kardiovasküler dñzenlemede ve tuz ve su hacmin homeostazisinin sñrdñrñlmesinde gereklidir. RAS bir dizi enzimatik reaksiyon sonucu oluşan ANG II ile etkisini gñstermektedir. RAS endokrin bir sistem olarak bilinmesine karşın bir çok dokuda otokrin veya parakrin bir role sahip olduğunu gñsteren kanıtların sayısı giderek artmaktadır (14, 15, 41, 65, 68, 83, 92). Bñbrekler dışında beyin, hipofiz, bñbrekñstñ bezleri, kalp, arteriyel dñz kas ve testislerde renin sentezlendiği bildirilmişsede (15, 41, 50, 67, 88). Dolaşımdaki reninin en ğnemli kaynağı bñbreklerde bulunan jukstaglomerñler hñcrelerdir (50).

RENİN:

Pepsin, kimozin ve katepsine benzeyen bir aspartil proteaz olan (61) reninin diğer aspartil proteazlarla bazı ortak ğzellikleri vardır. Ėrneėin aktif bñlgelerindeki aspartik asitlere bağlı karboksil grupları ortak ğzelliklerinden birisidir (50). Aminoasit dizilerini belirleyen şalışmalar (89) bu enzimlerin

benzer yapısal özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Aspartil proteazlar aktif bölgelerinden bir oyukla ayrılmış 2 lobdan oluşurlar (50). Reninde biri 32 diğeri 215 pozisyonunda olan iki aspartik asit, söz konusu oyuğun ağzında karşılıklı olarak bulunurlar ve enzimin aktivitesi için gereklidirler (40).

Tüm benzerliklerine karşın, renin diğer aspartil proteazlardan önemli farklılıklarda içerir. Bu gruptaki enzimlerden ayrıldığı noktalardan birisi yüksek substrat seçiciliği göstermesidir. "Flap region" olarak anılan, oyuğu çeviren bir oluşuma sahip olan tek aspartil proteazdır. Yüksek substrat seçiciliğinin nedeni büyük olasılıkla bu parçasından kaynaklanmaktadır. Nötral pH'da aktif olan reninin, bilinen tek substratı angiotensinojendir (50).

Fare (90), sıçan (13) ve insan (52, 58) renin genleri klonlanmıştır. Farelerde Ren-1 ve Ren-2 olarak adlandırılan 2 renin geni bulunmasına karşın, insanlarda ve sıçanlarda 1 renin geni bulunmaktadır (35, 90). Türler arasındaki genlerde yüksek düzeyde benzerlik bulunmaktadır. Birçok protein gibi, renin de, 406 aminoasitten oluşan ve moleküler ağırlığı 55 kDa olan bir öncül protein (preprorenin) olarak sentezlenir (61, 67). N terminalindeki ilk 23 amino asidin kopmasıyla 383 amino asit içeren prorenine dönüşür. Daha sonra 340 amino asitten oluşan ve molekül ağırlığı 37326 Dalton olan aktif renin şekline çevrilir. Aktif renin molekülü disülfid bağıyla birbirine bağlanmış ve yukarıda söz edilen 2 lobu oluşturan 2 polipeptit zincirinden oluşur (40). Detayları daha sonraki paragraflarda anlatılacak olan reninin önemli yapım yeri böbreklerdir (50). Böbrek dışı renin kaynaklarının kan basıncının fizyolojik düzenlenmesinde önemi tartışmalıdır.

ANJİOTENSİNOJEN:

54-60 kDa' luk molekül ağırlığa sahip bir glikoprotein olan anjiotensinojen bir α -2 globulindir (67). Esas olarak karaciğerde sentezlenip, depolanmasına ve glukokortikoidler, östrojen ve tiroksin gibi hormonal uyaranlara yanıt olarak dolaşıma verilmesine karşın (67), böbrekler, kan damarları, beyin, kalp ve böbrek üstü bezlerinde de gösterilmiştir (15, 17, 43, 55). Farklı dokularda üretilen anjiotensinojen molekülleri yapısal olarak tamamen birbirlerine benzerler (15, 16).

Salgılanan şekillerinin küçük moleküler ağırlık farklılıkları göstermesi glikozilasyondaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır (50).

Hepatik anjiotensinojen salınımı ANG II ile de artmaktadır (56, 57, 77, 112, 120). Karaciğer ve diğer dokulardaki anjiotensinojen mRNA düzeyleri nefrektomi ve hormonal uyaranlara benzer cevap vermesine karşın (17), düşük tuzlu diyetle beslenen sıçanlarda, sadece böbreklerde anjiotensinojen mRNA artışı saptanmış fakat karaciğerde böyle bir artışın olmadığı gözlenmiştir (62). Karaciğer anjiotensinojeni, akut yangısal olaylarda gerekli olan ve "akut faz proteinleri" olarak anılan proteinlerin bazı özelliklerini taşımakla birlikte (70, 93), akut yangıdaki rolü henüz bilinmemektedir (50). Anjiotensinojenin bulunduğu bir diğer önemli ekstrahepatik doku kan damarlarıdır. Ancak damar yatağındaki hangi hücrelerde bulunduğu tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar damar çevresindeki yağ dokusunda (18, 20), bazıları da düz kas hücrelerinde olduğunu öne sürmektedir (50).

ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME:

Angiotensin converting enzyme (ACE) bir dipeptidil karboksipeptidazdır. ANG I'in karboksi terminalinden bir dipeptit, (histidin⁹ ve lösin¹⁰) ayırarak ANG II oluşmasını sağlar (67). Tablo 1'de de görüldüğü gibi ACE, reninin tersine yüksek substrat seçiciliği göstermez (113). Diğer peptitleride, özellikle de bradikini hidrolize uğratabilir.

Tablo 1. ACE' ye substrat olabilen peptitler

<u>C- terminal dipeptitleri</u>	<u>Diğer parçalanma bölgesi</u>
Anjiotensin	Substance P
Bradikinin	Gonadotropinler
Enkephalin	
Neurotensin	

ACE tek zincirden oluşan ve molekül ağırlığı 145 kDa olan bir polipeptittir. Molekül ağırlığı 4800 olan bağlayıcı bir peptidle hücre membranına tutunmuştur (50). Sadece biri aktif olan 2 katalitik bölge içermektedir (115). ACE flor (67) ve çinko (32, 67) bağımlı bir metalloenzim

olduğu için aktivitesi EDTA ile veya diğer şelatör ajanlarla inhibe edilebilir (50).

En yoğun bulunduğu yer akciğer damar endotelidir (50). Ayrıca böbrekler, karaciğer, testisler ve beyinde olduğu da saptanmıştır (63, 107). Damar endotelinde tespit edildiği bölgeler tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. ACE'nin yerleşimi

Endotel

Epitel hücreleri

- Böbrek
- Gastrointestinal kanal
- Choroid plexus
- Placenta

Testis

- Germinal hücreler
- Spermatozoa

Nöronlar

- Circumventricular organlar
- Palido-nigral dendritler

ACE aktivitesini arttıran faktörler cAMP (84), glukokortikoidler (88), tiroid hormonları (67) ve ACE inhibitörleridir (36). Ayrıca sarkoidozlu hastalarda yüksek ACE aktivitesi gözlenmiştir (67).

ANJİOTENSİN I, II VE III:

Bir decapeptit olan ANG I reninin etkisi ile angiotensinojenden oluşur. Biyolojik aktiviteye sahip olmayan ANG I, ACE tarafından süratle biyolojik olarak aktif bir oktapeptit olan ANG II'ye çevrilir (67). Bu dönüşümün büyük bölümü pulmoner damar endotelinde gerçekleşir. Bununla birlikte periferik damar yatağında da önemli miktarda lokal ANG II oluşmaktadır (15, 27, 94). Böylece arteriyel kanda ANG II miktarı, venöz kana oranla yüksek olduğu halde, ANG I miktarı düşüktür. ANG II, anjiotensinazlar olarak adlandırılmış bir seri aminopeptidaz tarafından hızla yıkılır (67). Dolaşımdaki yarı ömrü

15-30 saniye kadardır (67). ANG II biyolojik etkilerini membran yüzeyinde bulunan reseptörlerine tutunarak gerçekleştirir. ANG II'nin şu an için bilinen, AT₁ ve AT₂ olmak üzere, 2 reseptörü vardır. AT₁ reseptörü fosfolipaz C'ye bir G proteini ile kenetlenmiştir. ANG II bu reseptörleri ile sitoplazmik kalsiyum miktarını artırır. Vücuttaki birçok dokuda bulunan AT₁ reseptörleri ANG II'nin bilinen etkilerinin çoğuna aracılık ederler. AT₂ reseptörlerinin fonksiyonları ve ikincil habercileri henüz bilinmemektedir ancak IP₃ ve cAMP değildir. AT₂ reseptörleri fetus ve yenidoğanda erişkin beyinde bol miktarda bulunmaktadır (40).

Anjiotensin reseptörlerinin sayısı dolaşımdaki ANG II düzeyi ile belirlenir. Ancak bu düzenleme doku tipine göre değişmektedir. Örneğin, damarlardaki ANG II reseptörlerinin sayısı ANG II miktarının artması ile azalırken (down regulation), böbrek üstü bezlerinde reseptör sayısı ANG II tarafından artırılır (up-regulation) (67). Böbrek üstü bezindeki reseptör miktarının bu şekilde düzenlenmesi, sodyum eksikliğinin, kan basıncında bir yükselme olmadan giderilebilmesi için önemlidir. ANG II farmakolojik düzeylerde birçok etkilere sahiptir, ancak temel fizyolojik etkileri kan basıncının kontrolü, sodyum ve sıvı dengesinin düzenlenmesidir.

Bilinen en güçlü vazokonstriktör maddelerden birisi olan ANG II damar düz kasını doğrudan etkileyerek, hızlı ve geçici bir pressör etki yaratır. Bunun dışında, presinaptik membrana bağlanarak noradrenalin salınımını arttırmak suretiyle nörojenik konstrüksiyonu kuvvetlendirerek dolaylı etki de gösterirler (67). ANG II özellikle böbrekler ve mezenterik dolaşımda güçlü konstrüktör etkiye sahiptir. ANG II pressör etkisinden bağımsız olarak, damar hipertrofisine yol açarak arterioskleroz patogeneğinde de önemli rol oynadığı bildirilmiştir (82). ANG II aynı zamanda potasyum ile birlikte, zona glomerulozadan aldosteron sekresyonunun en önemli uyarıcılarından birisidir (67). Ayrıca, glomeruloza hücrelerinin gelişmesi ve adrenal medulladan katekolaminlerin salgılanmasını sağlar (67). ANG II farmakolojik dozlarda pozitif inotropik ve kronotropik etkiye sahiptir. Fakat fizyolojik sınırlarda olduğunda bu etkileri oluşturup oluşturmadığı tartışmalıdır. Güçlü koroner vazokonstriktör etkisi nedeni ile ANG II nin son zamanlarda, ventrikül hipertrofisine yol açtığına ilişkin kanıtların sayısı artmaktadır (59, 101).

Beyindeki ANG II dolaşım kökenli olabileceği gibi lokal olarak da oluşur Kan-beyin bariyerinin olmadığı beyin bölgelerinde dolaşımdaki ANG II etkili olur. Circumventricular organdaki oluşumlar anılan bölgeleri oluşurmakta ve ANG II'nin susama üzerindeki etkisi bu bölgede oluşmaktadır (40). Kan-beyin bariyerinin olmadığı bir diğer bölge area postrema'dır. ANG II bu bölgedeki etkisiyle merkezi kan basıncını artırır (40). Beyin sapındaki dolaşım merkezlerinde de anjiotensin reseptörleri bulunmaktadır (22). İntaserebroventrik ler verilen ANG II kan basıncını yükseltir (67). Ayrıca, ANG II nin vazopressin ve oksitosin salgılanmasını artırıcı etkisi de gösterilmiştir (67)

ANG II'nin N terminalindeki aspartik asitin aminopeptidaz A ile koparılması sonucu bir heptapeptit olan ANG III oluşur. ANG III bazı biyolojik aktivitelere sahiptir. Beyinde ve böbreküstü bezlerinde fizyolojik önemi olabileceği düşünülmektedir (67).

Reninin böbrekteki dağılımı:

Renin böbreklerde, granüllü hücreler olarak da bilinen jukstaglomerüler hücrelerde üretilir ve bu hücreler preglomer ler arteriolün mediasında yer alır (50). Distal tübül hücreleri afferent arteriolün glomerüle girip, efferent arteriolün çıktığı noktada arteriollere temas eder. Tübül epitel hücreleri bu noktada değişime uğrayarak Maküla Densa adını alırlar. Jukstaglomerüler hücreler (granüler hücreler), granülsüz hücreler (ekstraglomer ler mezengial hücreler) ve makula densadan oluşan bu bölgeye jukstaglomerüler aparat denir (80).

Afferent arterioldeki granüler hücrelerin sayısı türlere ve patofizyolojik koşullara bağlı olarak belirgin değişim gösterir. Birçok afferent arteriolde, glomerülden önceki 10-40 μ m'lik bölümde renin bulunmaktadır. Bununla birlikte tamamen renin negatif arterioller olabileceği gibi, 100 μ m'den fazla bir alanda renin içerenlerde vardır. Bir başka ifadeyle, renin sadece jukstaglomerüler aparat (JGA) hücrelerinde değil, bu bölgeden önemli uzaklıkta olan hücrelerde de bulunmaktadır (50). Bir diğer özellik de afferent arteriolün renin pozitif bölümünün uzunluğunun sabit olmayıp, uyarının şiddetine göre değişmesidir. RAS'nin uyarılması granüllü hücrelerin sayısını arttırırken, inhibisyonu azaltmaktadır (50). Renin sekresyonu ilerde

ayrıntıları ile tartışılacağı gibi, renal arter içindeki basınç, sempatik sinir sistemi aktivitesi ve bazı humoral faktörler tarafından uyarılır.

Renin salgılayan hücreler postglomerüler arteriollerde de bulunmaktadır. Hatta bazılarında bu hücreler 100 μ m uzunluğa erişmektedir (124). Bununla birlikte, bu hücrelerin sayısının az olması nedeniyle maksimum şiddetteki bir uyarıda bile total renin salgısına, postglomerüler arteriollerin katkısı ihmal edilebilir. Bunun dışında proksimal tübül, distal bağlayıcı tübül ve kortikal toplayıcı kanallarda da renin olduğu bildirilmiştir (123).

Ace ve anjiotensinojenin böbrekteki dağılımı:

Proksimal tübül hücrelerinin apikal tarafında, tübüler renin ile aynı yerleşimde, immunoreaktif anjiotensinojen olduğu saptanmıştır (50). Önceleri bunun glomerüler filtrasyon ile gelip pinositozla hücre içine alınan anjiotensinojen olduğu düşünülmüşse de (103), son zamanlarda yapılan çalışmalarda, burada anjiotensinojene ait mRNA saptanmıştır (62).

Histokimyasal boyalarla tüm renal arter ve arteriollerin endoteli ile (122), fırçamsı kenarda belirgin olmak üzere, proksimal tübül epitelinde ACE de saptanmıştır (11). Böbrek içinde, reninin anahtar enzim olduğu klasik ANG II yolağından ayrı olarak, diğer bazı enzimlerin anjiotensin oluşturma yeteneklerinin olması mümkün görünmektedir (12).

Renin sekresyonunun kontrolü:

RAS sistemik kan basıncının ve sıvı-elektrolit dengesinin düzenlenmesine katkıda bulunurken çeşitli endokrin fonksiyonları ve otonom sinir sisteminin aktivitesini de değiştirdiği için, tüm bu faktörlerin ve sistemlerin böbreklerden renin salgılanmasına feed back bir etkide bulunması kaçınılmazdır. Bu nedenle renin salgılanmasını kontrol eden etmenleri şu şekilde sınıflandırabiliriz:

- 1 - Renal perfüzyon basıncı,
- 2 - Tübüler faktörler,
- 3 - Renal sinirler,
- 4 - Hormonlar:
 - Anjiotensin,
 - Antidiüretik hormon,
 - Prostaglandinler

- Atrial natriüretik peptit,

1- RENAL PERFÜZYON BASINCI:

Renin salgılanmasını etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Perfüzyon basıncı düştüğünde, renin sekresyonu artarken, perfüzyon basıncının artışı azalmaktadır. Renin sekresyonunu kontrol eden baroreseptör mekanizmanın esas olarak otoregülasyonu oluşturan miyojenik bir yanıt mı, yoksa tubuloglomerüler feedback mekanizması mı olduğu uzun süre tartışılmıştır. Daha sonra gerçekleştirilen çalışmalarda, artmış perfüzyon basıncına karşı oluşan renin sekresyon yanıtının, esasen artmış perfüzyon basıncını izleyen olayların (artmış arteryel basınç glomerüler filtrasyon hızını artırır, distal tübüle gelen NaCl artar ve böylece makula densa mekanizmasının aktivasyonu ile renin salınımı inhibe olur) aracılığı ile gerçekleşmediği saptanmıştır. Yani renin sekresyonunun baroreseptör kontrolü tubuloglomerüler feed-back mekanizmadan bağımsız gelişmektedir (50).

Duyarlı mekanizmanın nerede yerleştiği halen tam bilinmemekle birlikte, renin salgılayan hücrelerin aynı zamanda algılayıcı hücreler olduğuna inanılmaktadır (50).

Renal perfüzyon basıncı ile renin sekresyonu arasında sayısal bir ilişki bulunmaktadır. Anestezi almamış köpeklerde renal perfüzyon basıncının kademeli olarak azaltılması, kan basıncı 90 mmHg'nin üstünde iken renin sekresyonunda ancak küçük değişikliklere yol açmıştır. Halbuki perfüzyon basıncı 90 mmHg'nin altında basınçta her 2-3 mmHg'lık düşüşe karşılık renin salgısı iki katına çıkacak kadar belirgin artış göstermiştir (76). Renin sekresyonunun eşik değeri renal kan akımının otoregülasyon eğrisiyle aynı karakterleri taşımaktadır. Sadece kan akımı otoregülasyonun eşik değeri, renin için olan eşik değerden 20-30 mmHg daha düşüktür. Renin sekresyonu için kritik olan bu değer anestezi almayan sıçanlarda 80 mmHg bulunmuştur (28).

Renal perfüzyon basıncı azaldığında, prostaglandin E₂ (PGE₂) ve I₂ (PGI₂) salgılanması artmaktadır. Bu maddeler renin sekresyonunun kuvvetli birer uyarıcı olduğu için, baroreseptör yanıtın mediatörü olabilecekleri düşünülmüştür (64). Fakat bazı çalışmalarda prostaglandin sentez

inhibitörleri ile baroreseptör yanıtın azalmasına veya önlenmesine (60) karşın, bunun tersi bulguların da elde edildiği çalışmalar vardır (3, 39). Genel olarak kabul gören kanı prostaglandinlerin baroreseptör yanıtta önemli olduğu, fakat şart olmadığıdır (50).

Reninin baroreseptör kontrol mekanizması ile diğer kontrol mekanizmaları arasında ilişki vardır. Örneğin uzun süre düşük sodyum diyeti ile beslenen deney hayvanlarında (33) veya renal sinirlerin orta şiddetle uyarılmasında (66, 78) renin salgılanması için gereken eşik değerde belirgin bir değişiklik olmaksızın jukstaglomerüler hücreler perfüzyon basıncındaki değişikliklere daha duyarlı hale gelmiştir. Renin sekresyonunun baroreseptör mekanizma ile kontrolünün fizyolojik önemi, çabuk etkili kontrol sistemleri ile düzeltilemeyen kan basıncı düşmelerine karşı hızlı bir savunma mekanizması oluşturmasıdır (50). Kan basıncı eşik değerinin altına düştüğünde renin salgılanır ve dolaşımdaki ANG II düzeyini arttırarak periferik direnç artışı üzerinden arteriyel basıncı yükseltir.

2- TUBÜLER FAKTÖRLER:

Renin sekresyonunda makula densa hipotezi iki gözleme dayanmaktadır. Birincisi, distal tübül ile renin salgılayan jukstaglomerüler hücreler arasındaki yakın anatomik ilişkidir. İkincisi, diyetle alınan tuz miktarı ile plazma renin aktivitesi arasında zıt ilişki olmasıdır.

Distal tübüle gelen NaCl miktarı azaldığında renin sekresyonu artmaktadır. Makula densaya gelen NaCl artarsa total renin miktarında değişiklik olmaksızın, inaktif renin (prorenin) miktarı azalır ve daha fazla prorenin aktif renin haline geçer (130). Makula densa mekanizmasını en iyi gösteren deneylerden birisi Skøtt ve Briggs (114) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu iki araştırmacı glomerül, afferent arteriol, kalın çıkan henle, ve distal tübülün başlangıcına uyguladıkları mikropoksiyon çalışmaları esnasında perfüzyon sıvısında sodyum klorür konsantrasyonu azalışının, afferent arteriolde artmış renin sekresyonuna yol açtığını bulmuşlardır.

Makula densadan başka, distal toplayıcı tübülün %70-90'lık bir bölümü de afferent arteriol ile yakın anatomik ilişkidir (8). Ancak distal tübülün bu bölümünün renin sekresyonu ile ilişkisi bilinmemektedir.

Makula densaya gelen NaCl miktarı, yanıtın büyüklüğünü belirler. Oysa osmolalitenin veya potasyumun böyle bir etkisi yoktur (50). Makula densenin sodyuma mı, klora mı ya da her ikisine mi duyarlı olduğu halen tartışmalı bir konudur. Bazı çalışmalarda klorun temel belirleyici olduğu öne sürülmüştür. Sodyum tuzları ile yapılan infüzyonlarda renin sekresyonunda bir değişiklik olmadığı halde, makula densaya ulaşan klor konsantrasyonu ile renin sekresyonu arasında zıt ilişki gözlenmiştir (79). Benzer sonuçlar mikropoksiyon çalışmaları ile de elde edilmiştir (129). Bununla birlikte çıkan kalın Henle ve makula densada klor geri emilimi sodyum transportuna bağlı olduğundan, sodyumu olayın dışında tutmak zor görünmektedir.

Tübül sıvısı içindeki NaCl değişikliğine cevaben makula densenin hangi hücre içi habercileri kullanarak ve nasıl renin salgısına yol açtığı henüz bilinmemektedir. Ancak kalsiyum, kalmodulin ve cAMP hücreler arasındaki sinyal iletiminden sorumlu görünmektedir (25, 50). Ayrıca hücreler arası iletimden sorumlu tutulan faktörlerden birisi de adenozin (25).

3- RENAL SİNİRLER:

Renal sempatik sinirler renin salgısının kontrolünde önemlidir. Jukstaglomerüler aparat hücreleri yoğun olarak noradrenerjik innervasyona sahiptir. Bugüne kadar yapılan tüm deneysel çalışmalarda, β -agonistik uyarıların renin sentezini arttırdığı gösterilmiştir (50).

Renal sinirlerin uyarılması renin sekresyonunu artırmanın yanında, renal hemodinamide ve tübüler fonksiyonlarda da değişikliklere neden olur (66). Bundan dolayı renal sinir uyarılması sonucu artan renin sekresyonunun, sempatik innervasyonun dolaylı sonucu olabileceği akla gelmektedir. Ancak deneysel modellerin gelişmesi sonucunda, renal kan akımını değiştirmeden, renal sinir uyarıldığında da benzer sonuçlar elde edilmiştir (45). Ayrıca bu tür deneylerde önceden β reseptör blokajı yapıldığında, renin sekresyonu inhibe olur (45).

Renin salgılayan hücrelerdeki α -adrenerjik innervasyon yoğun değildir. Bununla birlikte α -adrenerjik uyarının renin sekresyonunu inhibe ettiğine ilişkin çalışmalar vardır (86, 108). Renin sekresyonunu değiştirecek derecede α -adrenerjik uyarı, aynı zamanda böbrek kan akımı, glomerüler

filtrasyon hızı ve sodyum geri emiliminde önemli değişiklikler yaptığı için, renin sekresyonuna olan etkisi dolaylı olarak kabul edilir (50).

4- RENİN SEKRESYONUNU ETKİLEYEN DİĞER FAKTÖRLER:

a- Anjiotensin: Renin sekresyonu ile ANG II arasında negatif geri etkileşim (feedback) vardır. ANG II, jukstaglomerüler hücreleri doğrudan etkileyerek renin salgılanması üzerine olan etkisini gerçekleştirir (24, 48, 49).

ANG II renin salgılanmasını kalsiyum bağımlı bir mekanizma ile inhibe eder (4, 110). Ortamda kalsiyum olmadığı veya kalsiyum kanal blokerleri olduğunda inhibisyon ortadan kalkar (110). Benzer sonuçlar kalmodulin inhibitörleri ile de elde edilir (38, 51).

ANG II'nin renin salgılanmasını inhibe etmesinin, kalsiyum yolağı yanında adenilat siklazı inhibe etmesi sonucu olabileceğini düşündüren çalışmalar da vardır (2, 131).

- Antidiüretik hormon (ADH): ADH' nin renin salgılanmasını inhibe etmesi için gereken dozlar çok yüksek olduğundan renin sekresyonunun kontrolünde ADH'nin fizyolojik önemi yoktur (50).

- Prostaglandinler: Prostaglandinler jukstaglomerüler aparatı doğrudan etkileyerek renin salgılanmasını artırırlar (37, 39, 111). PGE₂ ve PGI₂ dışarıdan verildiğinde renin sekresyonunu arttırmakta eşit güce sahiptirler (50). Ancak PGE₂ sentezi esas olarak tübülüslerde gerçekleşirken (10), PGI₂ sentezi böbrek damarlarında olmaktadır (116). Bu nedenle PGI₂ renin sekresyonunun kontrolünde diğer prostaglandinlere göre daha önemlidir (39). Prostaglandinlerin renin salgılatıcı etkilerinin hücresel mekanizması henüz bilinmemekle birlikte adenilat siklazın uyarılması sonucu cAMP artışı bu etkiye aracılık edebilir (50).

- Atrial natriüretik peptit (ANP): ANP atriumların gerilmesi sonucu kardiyak miyositlerden salgılanan 28 amino asitli bir peptittir. Vazodilatasyon, kardiyak atım hacminde azalma, aldosteron sekresyonunun inhibisyonu ve natriürezise neden olur. Böbreklerde vazodilatasyona yol açarak glomerüler filtrasyon hızı ile filtrasyon fraksiyonunu artırır. ANP sistemik olarak uygulandığında renin salgılanmasını inhibe etmektedir (5). Bunun dışında ANP ANG II'nin

proksimal tubullerdeki sodyum ve su tutucu etkisini doğrudan etkilediği bilinmektedir (6).

HÜCRE MEMBRANI VE KOLESTEROL:

Kolesterol dokularda ve plazmada serbest, uzun zincirli yağ asitleriyle kombine şekilde veya kolesterol esterleri şeklinde bulunur. Birçok dokuda asetil-CoA'dan sentezlenebilir. Vücuttaki kolesterolün yarısı bu yoldan, diğer yarısı ise diyetle alınan kolesterolden kaynaklanmaktadır.

Kolesterol, plazma lipoproteinlerinin dış tabakasının komponentlerinden ve hücre membranının yapısal bileşenlerinden birisi olan amfipatik bir lipittir. Kolesterol esterleri birçok dokuda, kolesterolün depolandığı formdur. Dolaşımdaki serbest kolesterol, lipid içeriklerine ve büyüklüklerine göre 6 tipe ayrılan lipoproteinler ile taşınır. Bu lipoproteinlerin yoğunlukları lipid içerikleri ile ters orantılıdır (Tablo 3).

Lipoprotein	Boy (nm)	Bileşimi (%)				
		Protein	Serbest kolesterol	Kolesterol esterleri	Trigliserid	Fosfolipid
Şilomikronlar	75-1000	2	2	3	90	3
Şilomikron kalıntıları	30-80	-	-	-	-	-
Çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL)	30-80	8	4	16	55	17
Ara yoğunluklu lipoproteinler (IDL)	25-40	10	5	25	40	20
Düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL)	20	20	7	46	6	21
Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL)	7 5-10	50	4	16	5	25

Tablo 3. Lipoproteinlerin bileşimi.

Hücre membranı çift katmanlı lipid tabakası ve bu tabaka ile bağlantılı protein yapılardan oluşmuştur. Membran proteinlerinin görevleri şu şekilde sıralanabilir

- 1- Yapısal proteinler,
- 2- Pompa görevi yapan proteinler,
- 3- Taşıyıcılar,
- 4- İyon kanalları,
- 5- Reseptörler,
- 6- Enzimler,
- 7- Glikoproteinler.

Yukarıda sayılan protein yapıların görevlerini tam olarak yapabilmeleri membranın hareketliliğine bağlıdır. Membranın hareketliliğini belirleyen ise lipid çift tabakasının özellikleridir. Ökaryotik hücre membranında fosfolipidler, kolesterol ve glikolipidler olmak üzere 3 ana lipid türü bulunur. Bunlardan miktarı en fazla olan fosfolipidlerdir. Akışkanlığı belirleyen 4 tip lipid hareketi vardır:

- 1- Flip-flop hareketi: Lipid moleküllerinin bir tabakadan diğerine göç etmesidir.
- 2- Lateral difüzyon: Lipid moleküllerinin tek tabaka içinde komşularıyla yerini değiştirmesidir.
- 3- Rotasyon: Lipid moleküllerinin uzun eksenleri çevresindeki hareketleridir.
- 4- Fleksiyon: Lipid çift tabakasının ortasına yakın bölgedeki hareketlerdir. Fosfolipidlerin hidrokarbon zincirlerinin esnekliğinden kaynaklanır.

Membran akışkanlığının belirleyicilerinden birisi membrandaki fosfolipidlerin türleridir. Bir çok memeli hücre membranı fosfotidilserin, fosfotidilkolin (lesitin), sfingomyelin ve fosfotidil etanolamin olmak üzere 4 tip fosfolipid içermektedir. Akışkanlık yönünden fosfolipidlerdeki yağ asitlerinin doymunluğu ve uzunluğu önemlidir. Doymuş yağ asitlerinden zengin olanlarda akışkanlık azalırken doymamış yağ asitlerinin fazla olması durumunda artar. Fosfotidilserin ve fosfotidil etanolamin daha çok doymamış yağ asitlerini içerir. Lesitin kısa zincirli doymuş yağ asitlerinden,

sfingomyelin ise uzun zincirli yağ asitlerinden zengindir. Sfingomyelin/lesitin oranının büyümesi akışkanlığı azaltmaktadır.

Hareketliliğin bir diğer belirleyicisi kolesteroldür. Kolesterole ait rijit steroid halkaları fosfolipidlerin polar baş gruplarını hareketsizleştirir. Bu nedenle kolesterol/fosfolipid oranının artması akışkanlığın azalması anlamına gelmektedir. Kolesterol, bu etkisinin yanında çift tabakanın suda eriyen küçük moleküllere karşı geçirgenliğini de azaltır. Kolesterolün membranda yaptığı bu rijidite membran şeklindeki oluşabilecek değişmelerin tolere edilebilirliğini azaltır. Membran akışkanlığının azalması membran transport süreçlerini ve enzim aktivitelerini olumsuz etkiler. Bu nedenle, hiperkolesterolemide membran akışkanlığının azalması sonucunda hücre fonksiyonları bozulmaktadır. Monosit fonksiyonları (118), öğrenme (100, 121), reseptör fonksiyonları (34) ve iyon alışverişinin hiperkolesterolemiden olumsuz etkilenmesi hiperkolesterolemiye bağlı hücre fonksiyon bozulmalarına örnek olarak sayılabilir. Kan lipid tablosundaki değişikliklerin böbrek fonksiyonlarını da etkilediği bilinmektedir (46, 75, 109). Ancak böbreklerin kan basıncı düzenlenmesinde üstlendikleri görevin hiperkolesterolemiden nasıl etkilendiği incelenmemiştir.

Hiperkolesterolemi, böbrek fonksiyonları ve kan basıncı arasındaki ilişki: İlerleyici böbrek hastalıkları ile birlikte olan hiperlipidemi glomerüler hasarı artırır (46, 75, 109). Plazma lipid miktarını düşüren ilaçlar glomerüler hasarı azaltarak (74), böbrek fonksiyonlarının düzelmesine neden olurlar. Glomerüler hasar ve hipertansiyon varlığında nefron bozukluğunun hiperkolesterolemi tarafından artırıldığı bilinmektedir (75). Hiperlipidemi ve hipertansiyonun böbrekler üzerindeki olumsuz etkileri birbirinden bağımsız kabul edilmesine karşın, bazı deneysel çalışmalar, ikisi arasında önemli bir bağlantı olabileceğini göstermektedir (75). Hiperlipideminin, vazoaktif maddelerin üretim ve/veya sekresyonunu etkileyebileceği gösterilmiştir. Hiperkolesterolemi vazodilatör maddelerin vasküler üretimini azaltırken, vazokonstrüktör maddelerin vasküler üretimini arttırmaktadır. Hiperkolesterolemide artan vazokonstrüktör maddeler arasında tromboksan A₂ ve endotelin sayılabilir. Bunun yanında, vazodilatör maddeler olan prostasiklin ve EDRF sentezi de azalmaktadır.

(75). Diyet ile oluşturulan aterosklerotik hayvanlarda, *in vivo* ve *in vitro* olarak yapılan çalışmalarda endotele bağımlı dilatasyonun bozulduğu, ancak endotelden bağımsız dilatasyonun etkilenmediği dikkati çekmiştir. Ayrıca hiperkolesteroleminin seçici olarak asetilkolin reseptörlerini etkilediği de gösterilmiştir (42). Epidemiyolojik çalışmalarla (9, 69) hipertansiyonlu hastalarda yüksek serum kolesterol ve trigliserit ile azalmış HDL-C düzeylerinin saptanmış olması hiperkolesterolemi ile hipertansiyon arasındaki muhtemel ilişkiyi doğrulamıştır.

Hiperkolesterolemi-hipertansiyon ilişkisinin açık olmayışına karşın böbrek hastalıklarında hipertansiyon sıklığı çok iyi bilinir. Diğer kan basıncı düzenleyici mekanizmaların sağlam olmasına karşın glomerulonefritlerde, piyelonefritte ve renal arter stenozunda hipertansiyon gelişmesi, böbreklerin kan basıncı düzenlenmesindeki önemini göstermektedir. Çeşitli böbrek hastalıklarının neden olduğu kan basıncı yüksekliği ile seyreden klinik tabloya renal hipertansiyon adı verilmektedir.

Lipidler, böbrekler ve kan basıncı arasındaki yukarıda açıklanan yakın ilişki göz önüne alındığında, herhangi birinde gelişen olumsuz değişikliğin diğerlerini etkileme olasılığı yüksek görülmektedir. Günümüzde çok önemli bir sorun haline gelmiş olan ve iskemik kalp hastalığı risk faktörlerinden olan hiperkolesteroleminin etkileri, çeşitli deneysel, klinik ve epidemiyolojik çalışmalarla oldukça kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır. Lipidler ile çeşitli böbrek fonksiyonları arasındaki ilişki ve hiperkolesterolemi sonucu membran akışkanlığındaki değişiklikler ve buna bağlı oluşan fonksiyon bozuklukları oldukça iyi incelenmiş olmasına karşın, hiperkolesterolemide jukstaglomerüler aparat duyarlılığının nasıl değiştiği iyi bilinmemektedir. Ancak jukstaglomerüler aparat hücre membranlarının kolesterol değişikliğinden kendilerini koruyabilmeleri imkan dahilinde olamayacağından bu hücrelerin fonksiyonlarının da bozulması dolayısıyla kan basıncını düzenlemede böbreklerin yetersiz kalmaları çok doğal bir beklentidir. Bir başka ifade ile hiperkolesterolemi hipertansiyon gelişmesinde zemin hazırlayıcı bir faktör olabilir. Bu beklentinin doğruluğunu araştırmanın ve böbreğin kan basıncını düzenleme mekanizmalarına hiperkolesteroleminin ne yönde etki ettiğini saptamanın

linik önemi tartışılmaz. Bu amaçla bir deneysel çalışma tertiplenerek elde edilen bulgular literatür bilgisinin ışığı altında tartışılmıştır.

GEREÇLER ve YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilen bu çalışmada, ağırlıkları 150-180 g. arasında değişen 44 adet erkek albino sıçan kullanılmıştır. Her kafeste bir hayvan olacak şekilde muhafaza edilen kontrol sıçanlar 8 hafta ticari sıçan yemi ve musluk suyu ile beslenmelerine karşın deney grubundaki hayvanlar %2 kolesterol ve %0.2 taurokolik asid ilave edilmiş yem (hiperkolesterolemik yem) ve musluk suyu ile beslenmişlerdir. 8 haftalık beslenme periodu esnasında tüm hayvanların günlük yem ve su tüketimleri ve vücut ağırlıklarındaki haftalık değişiklikler kaydedilmiş ve 8 haftalık besleme döneminin sonunda 1 g/kg üretan anestezisi ile uyutularak kan basıncının izlenmesi ve kanama yapabilmek amacıyla sağ femoral arter, infüzyon için sol femoral ven kateterize edilmiş, idrar örneklerinin alınabilmesi için mesanelerine kanül yerleştirilmiştir. Cerrahi işlemlerin tamamlanmasından sonra 37 µl/dk serum fizyolojik infüzyonuna başlanmış (Harvard infüzyon pompası) ve 30 dakikalık stabilizasyon dönemini takiben 60 dakika süre ile kontrol idrar örnekleri toplanmış ve 90. dakikada infüzyona son verilmiştir. Kontrol ve deney grubundaki hayvanlar aşağıdaki protokole göre iki gruba ayrılarak, 1. ve 3. gruplarda 6 ml/kg/dk 2. ve 4. gruplarda 12 ml/kg/dk olacak şekilde sağ femoral arterden kanatılarak kan volümlerinde akut azalma yapılarak kan basınçlarında sırası ile %40 ve %60'lık düşme oluşturulmuştur (Tablo 4). Kanama sonrası böbrek fonksiyonlarındaki değişimleri izlemek amacıyla 2. kez idrar toplanmaya başlanmış ve ilk 20 dakika içinde sistolik ve diyastolik kan basıncı kayıtları yapılmıştır. Yeterli miktarda idrar toplandıktan sonra kan örnekleri ve gerekli

dokular alınarak deneye son verilmiştir. Doku örnekleri kolesterol ve prostoglandin analizi yapılınca kadar ve plazmalar elektrolitler, kreatinin, lipid ve renin aktivitesi ölçülünceye dek, -68 °C'de Heraeus marka D-7468 Balingen model derin dondurucuda muhafaza edilmişlerdir.

GRUPLAR	DİYET	KANAMA MİKTARI	DENEK SAYISI
1	Normal yem	6 ml/kg	11
2	Normal yem	12 ml/kg	8
3	%2 kolesterol	6 ml/kg	10
4	%2 kolesterol	12 ml/kg	15

Tablo 4. Çalışma grupları.

LİPİD ANALİZLERİ:

Plazma ve dokularda total kolesterol, HDL kolesterol ve fosfolipid tayini: Kolesterol ve fosfolipid saptanacak dokuların ekstraksiyonu Radin'in yöntemine göre yapılmıştır (102) Shimadzu marka L-200 SM model hassas terazi ile yaş ağırlıkları belirlenen dokular 3 ml. hexan:isopropil alkol (3:2 v/v) karışımı içinde, Tri-R Stir-R marka K43 model homojenizatörde iki dakika süre ile 5000 rpm'de homojenize edilmiş ve homojenizasyon işleminden sonra örnekler, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenip, elde edilen dökelti (süpernatant) başka bir tüpe aktarılmıştır. Daha sonra dipte kalan çökelti (pelet) üzerine yeniden 3 ml. hexan:isopropil alkol karışımı eklenerek santrifugasyon işlemi yinelenmiş, ikinci dökelti de bir öncekine eklenerek tüpler Heraeus marka D-6450 Hanau model etüve konularak 65 °C'de tamamen kuruyuncaya kadar beklenmiştir. Uçurulan tüplere daha sonra 3 ml. isopropil alkol ilave edilip vorteks cihazı ile karıştırılmış ve kolesterol ve fosfolipid tayini için kullanılmıştır. Kolesterol

miktarı Sclavo Choles-Cinet kitleri aracılığı ile enzimatik olarak saptanmıştır. Kolorimetrik ölçüm için, Point 180 marka 1907 model Chemistry Analyzer çalıştırılıp, ısısının 37°C'ye gelmesini takiben, kolesterol tayini için programlanmıştır.

Programlanan analizör önce kör olarak 1 ml ayıraç içine konan 10 µl distile su ve standard olarak, 1 ml ayıraç içeren ayrı bir tüp içine 10 µl 200 mg/dl kolesterol standardı kullanılarak kalibre edildikten sonra doku örneklerindeki kolesterol miktarları ölçülmüştür. Ölçümlerde deney içi sapmaları önlemek amacıyla tüm tüplerin okunması 10 dakikada gerçekleştirilmiştir.

HDL kolesterol ölçümü, içerdiği Mg⁺⁺ ve dekstran sülfat nedeniyle HDL dışındaki tüm lipoproteinlerin çökmesini sağlayan Sclavo CHOL HDL kiti kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla 0.5 ml serum örneği üzerine 0.05 ml çöktürücü ayıraç eklenerek 25°C'de 5 dakika beklenmiş ve elde edilen karışım bu sürenin sonunda 15 dakika 3000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Daha sonra süpernatant kısımdan örnek alınarak yukarıda tanımlandığı şekilde kolesterol analizi yapılmıştır.

Yukarıda anlatılan homojenizasyon işlemi sonucunda isopropil alkol ile hazırlanan son karışımın içerdiği fosfat miktarı Sclavo Phosphorus kiti ile Point 180 kimyasal analizör ile tayin edilmiş ve fosfolipidlerin %4'ünün fosfor olduğu dikkate alınarak aşağıdaki formül aracılığı ile fosfolipid miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Doku fosfolipid miktarı (mg/g)} = \frac{\text{Fosfor konst (mg/dl)} \times \text{Propanol miktarı (ml)} \times 0.25}{\text{Doku ağırlığı (g)}}$$

Plazma kolesterol miktarının tayini için her hangi bir ekstraksiyon işlemi uygulanmadan, abdominal aortadan alınan kan örneklerinin 3000 rpm'de 15 dakika santrifügasyonu sonucu elde edilen plazma kullanılmıştır.

Eritrosit membranının elde edilmesi ve lipid analizleri: Sıçanlardan abdominal aorta yoluyla alınan kandan membran elde edilmesi, Dodge ve arkadaşlarının yöntemine göre yapılmıştır (30). Öncelikle 2000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenen kandan plazmanın uzaklaştırılması ile

elde edilen eritrosit paketi, serum fizyolojik ile 2000 rpm'de 5 dakika süre ile 3 kez yıkanmıştır. Yıkama işlemleri sonrası elde edilen eritrosit paketinin 1 ml'sine, aynı hacimde distile su eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Böylece eritrositlerin hemoliz olması sağlanmıştır. Elde edilen hemolizat 8000 rpm'de 4 °C'de 30 dakika santrifüjlenmiştir. Üst sıvı alındıktan sonra, kalan çökelti üstüne pH'sı 8.0 olan 0.15 M Tris-HCl solüsyonu eklenerek 8000 rpm'de 4 °C'de 30 dakika santrifüjlenmiştir. Üst sıvıda siyanomethemoglobin yöntemi ile yapılan Hb ölçümünde olumsuz sonuç alana dek bu işlem yinelenmiştir. Her bir tüpteki çökelti (eritrosit membranı) 2 ml serum fizyolojik içinde yeniden süspansiyon haline getirilmiştir. Elde edilen süspansiyonun 100 µl'si alınarak Lowry yöntemi ile protein analizi yapılmıştır (85).

Oluşan eritrosit membranından lipid ekstraksiyonu için Rose ve Oklanderin yöntemi kullanılmıştır (104). Bu amaçla, 1 ml membran süspansiyonuna 9 ml kloroform:izopropil alkol (7:11 v/v) karışımı eklenerek vorteks cihazında karıştırılmıştır. Oluşan karışım 2000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Bu işlem sonrasında üstte kalan lipid faz özenle bir başka tüpe alınmıştır. Altta kalan fazın üzerine 2 ml ekstraksiyon karışımı konarak santrifüj işlemi yinelenmiştir. Üstteki lipid faz alınarak bir öncekinin üzerine eklenmiştir. Bu işlem iki kez tekrarlanmıştır. Ekstrakte edilen materyal 65°C'ye ayarlanan etüvde tamamen uçurularak üzerine 1 ml izopropil alkol konulmuş ve vorteks ile karıştırılmıştır. Böylece elde edilen lipid ekstraksiyonundaki kolesterol ve fosfolipid miktarı daha önce söz edilen kitler yardımıyla kimyasal analizörde belirlenmiştir.

PGE₂ miktarının belirlenmesi: Deney sonunda çıkarılan böbrekler hemen buz içine konularak PGE₂ tayini yapılınca kadar -68 °C'de saklanmıştır. Daha sonra böbrek korteksi ve medullası, bir bistüri ucu yardımı ile birbirinden ayrılarak yaş doku ağırlıkları belirlenmiştir. Doku örnekleri kloroform:metanol (2:1 v/v) karışımı içinde 5000 rpm'de 2 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar 3000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüjlenmiştir. Üst sıvıları ayrı bir tüpe alınarak kalan çökeltiye aynı işlem bir kez daha uygulanmıştır. Santrifügasyondan sonra elde edilen üst sıvı bir öncekinin üstüne eklenerek, azot altında uçurulmuştur. Daha sonra 2 ml kloroform eklenerek 30 saniye vorteks ile

kariştırılan numuneler, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra alınan üst sıvılar yeniden azot altında uçurulmuştur. Elde edilen ekstrakt üstüne 1 ml su:asetonitril:benzen:asetik asit (767:230:2:1 v/v/v/v) karişımı eklenerek, elde edilen örnekler 0.45 µm'lik Millipor filtrelerden geçirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan numunelerden, Cockrell ve Ellis'in yöntemi uygulanarak Varian 5020 marka HPLC cihazı ile PGE₂ analizi yapılmıştır. (26)

HPLC'nin kalibrasyonu:

* Referans madde: PGE₂ (Sigma)

* Koşullar:

Kolon:SP C18, 15 cm x 4 mm boyutunda, 3 mm partikül büyüklüğü olan "reverse phase" kolon.

Mobil faz: Su:asetonitril:benzen:asetik asit (767:230:2:1 v/v/v/v)

Akım hızı: 1 ml/dk

Isı: 35 °C

Dalga boyu: 210 nm

İdrar ve serum kreatinin analizi: Serum ve idrar kreatinin analizi Eagle marka kreatinin kiti kullanılarak, Point 180 chemistry analyser'da yapılmıştır. Analizör çalıştırılıp, ısısının 37°C'ye gelmesini takiben, kreatinin tayini için programlanmıştır

Programlanan analizör önce kör olarak 1 ml. distile su ve standart olarak, 1 ml ayıraç içeren ayrı bir tüp içine 50 µl 5 mg/dl kreatinin standardı kullanılarak kalibre edildikten sonra serum ve idrar örneklerindeki kreatinin miktarları ölçölmüştür

GFR hesaplanması: Serum ve idrar kreatinin miktarları belirlendikten sonra, GFR tayini için aşağıdaki formöl kullanılmıştır:

$$\text{GFR } (\mu\text{l/dk}) = \frac{\text{İdrar kreatinin kons. (mg/dL)} \times \text{İdrar miktarı } (\mu\text{l/dk})}{\text{serum kreatinin kons (mg/dL)}}$$

İdrar sodyum ve serum sodyum, potasyum değerlerinin saptanması: İdrar sodyumu ve serum örneklerinde sodyum potasyum

saptanması Instramettation 943 model flame fotometre kullanılarak yapılmıştır.

PRA tayini: PRA analizi yapmak amacı ile alınan kan örnekleri hemen buz içine konmuş ve Kubota marka (Model 5800) soğutmalı santrifüj ile 3000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüjlendikten sonra plazması alınarak PRA tayini yapılana dek -68°C 'de bekletilmiştir. Daha sonra Sorin Biomedica kit kullanılarak, işaretli angiotensin I ve standart angiotensin I'in yarışması temeline dayanan radioimmunoassay yöntemiyle DPC Gambyt CR marka gamma counter ile PRA aktiviteleri belirlenmiştir.

Sonuçların değerlendirilmesi: Elde edilen sonuçları değerlendirmek amacıyla Statview 512+™ paket istatistik programı kullanılmıştır. Gruplara ait verilerin istatistiksel karşılaştırması için student-t testi uygulanmıştır. Metin içindeki ve tablolardaki veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde gösterilmiştir.

BULGULAR

Genel görünüm:

8 hafta süre ile ticari sıçan yemi ve %2 kolesterol içeren yem ile beslenen sıçanların görünüm ve davranışlarında önemli fark dikkati çekmemiştir.

Besin ve su tüketimleri:

Tablo 5' te belirgin olarak görüldüğü gibi vücut ağırlığının 100 gramı başına tüketilen yem şeklinde hesaplandığında 8 hafta süre ile hem kontrol hemde kolesterolden zengin yem yiyen sıçanların birinci hafta hariç iştahları ve su tüketimleri arasında (4.hafta hariç) anlamlı fark dikkati çekmemiştir.

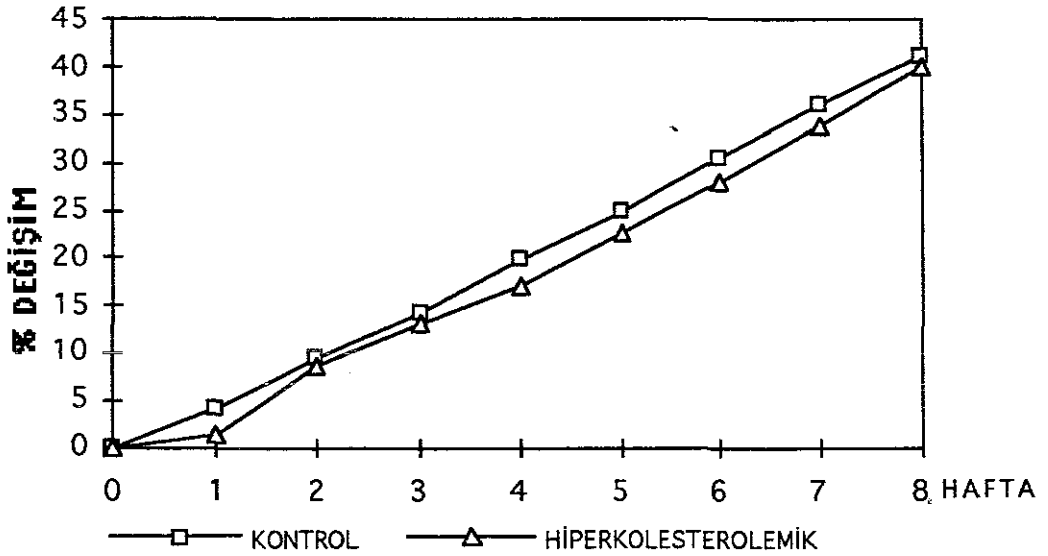
		GRUP 1-2	GRUP 3-4		GRUP 1-2	GRUP 3-4
1. HAFTA	BESİN	4.38 ± 0.8	2.90 ± 0.58	5. HAFTA	6.65 ± 0.5	6.52 ± 0.35
	SU	8.06 ± 0.14	8.10 ± 1.34		10.06 ± 0.71	10.33 ± 2.97
2. HAFTA	BESİN	5.0 ± 0.81	5.47 ± 1.86	6. HAFTA	6.40 ± 0.38	6.16 ± 0.35
	SU	7.97 ± 0.22	8.02 ± 0.97		9.32 ± 0.44	8.37 ± 1.34
3. HAFTA	BESİN	6.42 ± 0.42	6.73 ± 0.27	7. HAFTA	5.57 ± 1.87	5.57 ± 1.87
	SU	10.30 ± 0.89	10.06 ± 0.96		8.39 ± 0.65	8.75 ± 1.94
4. HAFTA	BESİN	6.38 ± 0.32	6.20 ± 0.70	8. HAFTA	5.21 ± 0.23	5.22 ± 0.43
	SU	10.28 ± 0.61	14.94 ± 0.48		8.21 ± 0.69	7.90 ± 2.85

Tablo 5. Deneye alınan hayvanların günlük besin (g/100 g ağırlık) ve su (ml/100 g ağırlık) tüketimi. Ort±SS

Ağırlık değişiklikleri:

8 hafta süre ile beslenen sıçanların büyümeleri ile doğrusal ilişkili olarak vücut ağırlıkları da anlamlı artış göstermişse de diyetin kolesterolden zengin oluşunun ağırlık artışı üzerine önemli katkısı olmamıştır ve hem kontrol hem %2 kolesterol içeren yemle beslenen sıçanların vücut ağırlık değişikliği benzer bulunmuştur. (Şekil 3).

% AĞIRLIK DEĞİŞİMİ

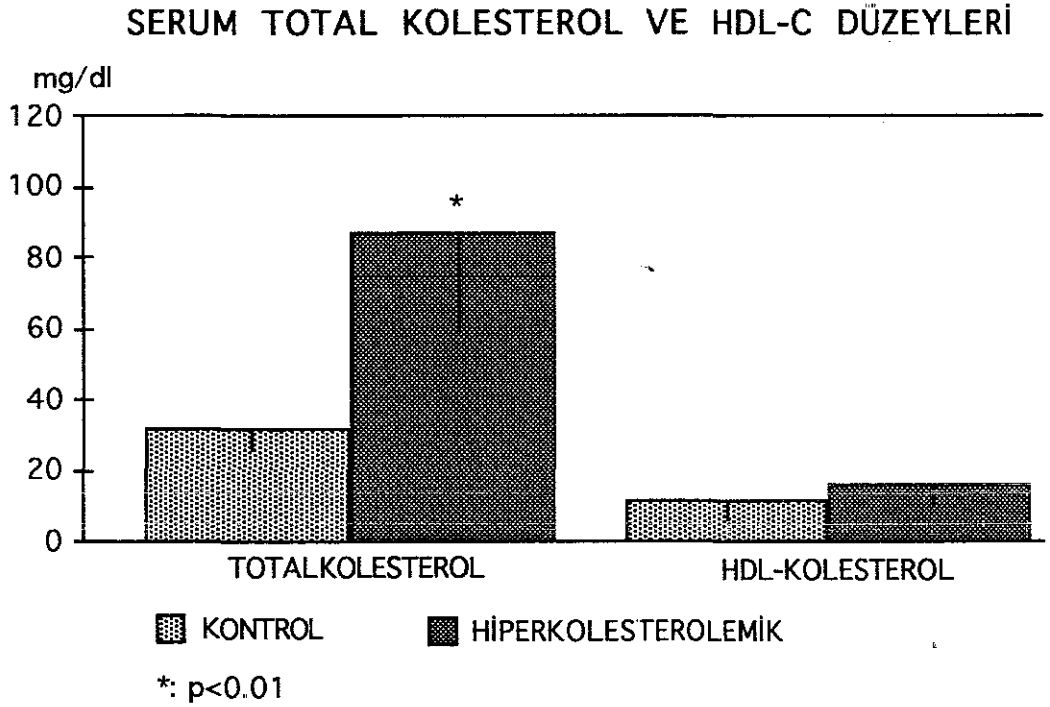


Şekil 3. Deneye alınan sıçanların haftalık ağırlık değişikliği.

Plazma kolesterol düzeyindeki değişiklikler:

Serum total kolesterol düzeyi normokolesterolemik yemle beslenen sıçanlarda (Grup 1 ve 2) ortalama 33.46 ± 4.78 mg/dL iken, %2 kolesterol içeren diyet ile 8 hafta beslenen gruplarda (Grup 3 ve 4) 87.78 ± 27.56 mg/dL olarak saptanmıştır (Şekil 4, Tablo 6). Serum total kolesterolünde beslenmeye bağlı bu yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0.05$) dikkati çekmişse de serum HDL-C düzeyleri arasında istatistiksel öneme sahip fark saptanamamıştır. Kontrol yemle beslenen 1. ve 2. gruplarda HDL-C 11.98 ± 5.26 mg/dL, kolesterolden zengin yem yiyen 3. ve 4. gruplarda bu değer 16.7 ± 10.54 mg/dL olarak ölçülmüştür (Şekil 4, Tablo

6). Buna karşın, HDL-C / Total kolesterol oranları total kolesteroldaki artışa bağlı olarak kontrol grubundaki değer olan 0.34 ± 0.13 'dan hiperkolesterolemik gruplarda 0.19 ± 0.09 ' a düşmüştür ($p<0.001$) (Şekil 5, Tablo 6).



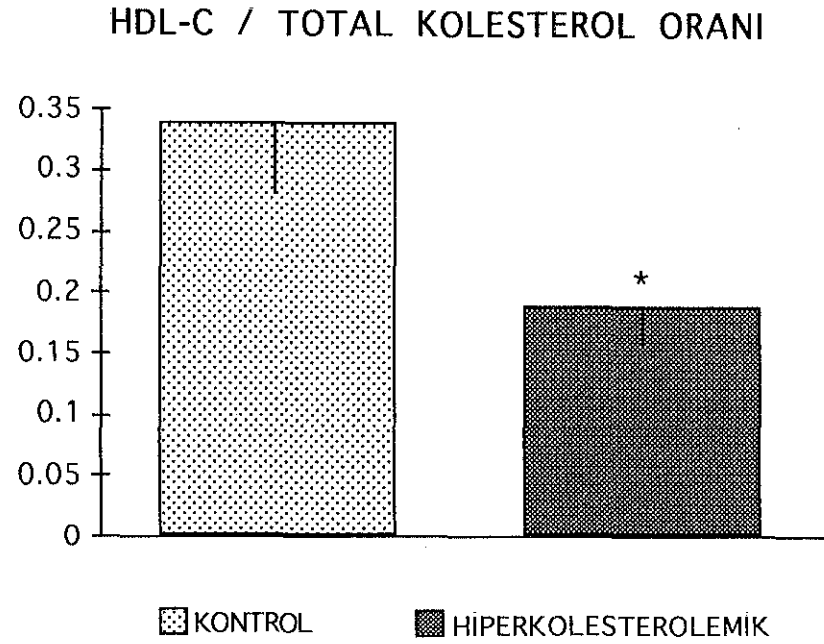
Şekil 4. Plazma total ve HDL kolesterol düzeyleri.

Doku lipid düzeyindeki değişiklikler:

Hiperkolesterolemik diyetle beslenen deneklerin karaciğer kolesterolünde belirgin artış olmasına karşın ($p<0.001$) aynı hayvanların böbrek medulla ve korteksinde anlamlı kolesterol değişikliği saptanmamıştır. Kontrol grubunda 3.05 ± 0.45 mg/g doku (yaş ağırlık) olan kolesterol düzeyi, hiperkolesterolemik sıçanların karaciğerinde 22.28 ± 7.81 mg/g doku (yaş ağırlık)'ya kadar yükselmiştir. Böbrek korteks ve medullasında kolesterol sırasıyla kontrol grubunda 4.46 ± 0.95 ve 4.57 ± 1.06 mg/g hiperkolesterolemik hayvanlarda 4.71 ± 0.83 ve 4.51 ± 0.85 mg/g doku (yaş ağırlık) olarak bulunmuştur. Ayrıca 8 hafta %2 kolesterol eklenmiş

GRUPLAR	Karaciğer kolesterolü mg/g yaş doku	Böbrek korteks kolesterolü mg/g yaş doku	Böbrek medulla kolesterolü mg/g yaş doku	Böbrek korteks fosfolipidi mg/g yaş doku	Böbrek medulla fosfolipidi mg/g yaş doku	Böbrek korteks Kolesterol fosfolipid oranı	Böbrek medulla Kolesterol fosfolipid oranı	Plazma kolesterolü mg/dl	HDL mg/dl	HDL/T.Kolesterol	LDL+VLDL
KONTROL	3.05 ± 0.45	4.46 ± 0.95	4.57 ± 1.06	13.14 ± 1.14	13.09 ± 1.15	0.34 ± 0.06	0.33 ± 0.07	33.46 ± 4.78	11.98 ± 5.26	0.34 ± 0.13	21.44 ± 5.01
HİPERKOLESTEROLEMİK	22.28 ± 7.81*	4.71 ± 0.83	4.51 ± 0.85	12.73 ± 1.01	12.50 ± 1.35	0.36 ± 0.07	0.35 ± 0.05	87.78 ± 27.56*	16.7 ± 10.54	0.19 ± 0.09*	71.34 ± 22.62*

Tablo 6. Doku ve plazma lipid düzeyleri. *: Kontrole göre $p<0.05$



Şekil 5. Kontrol ve hiperkolesterolemi gruplarında HDL/Total kolesterol oranı
* p<0.05

diyet ile beslenmenin böbrek korteks ve medullasında kolesterol/fosfolipid oranlarını etkilemediği gibi, böbrek korteks ve medullasının fosfolipid düzeylerinde de her iki beslenme grubunda benzer sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 6).

Eritrosit membran kolesterolü, fosfolipidi ve kolesterol/fosfolipid oranları:

1 ml eritrosit paketinin membran kolesterol düzeyleri kontrol grubu sıçanlarda 0.836 ± 0.057 mg/ ml iken hiperkolesterolemik hale getirilmiş hayvanlarda bu değer anlamlı olarak artarak 1.147 ± 0.079 mg/ ml eritrosit paket 'e yükselmiştir ($p < 0.001$) (Tablo 7).

Eritrosit membran fosfolipid düzeyleri ise kontrol ve hiperkolesterolemik gruplarda sırasıyla, 3.34 ± 0.17 mg/ ml eritrosit paketi ve 3.03 ± 0.15 mg/ ml eritrosit paketi olarak saptanmıştır. Hiperkolesterolemik grupta saptanan membran fosfolipid azalışının istatistiksel öneme sahip olduğu görülmüştür (Tablo 7). Membran akışkanlığının göstergesi olarak kabul edilen kolesterol/ fosfolipid oranı kontrol sıçanlarda 0.49 ± 0.02 değerinden hiperkolesterolemiklerde anlamlı değişerek 0.75 ± 0.06 ya yükselmiştir ($p < 0.001$) (Tablo 7).

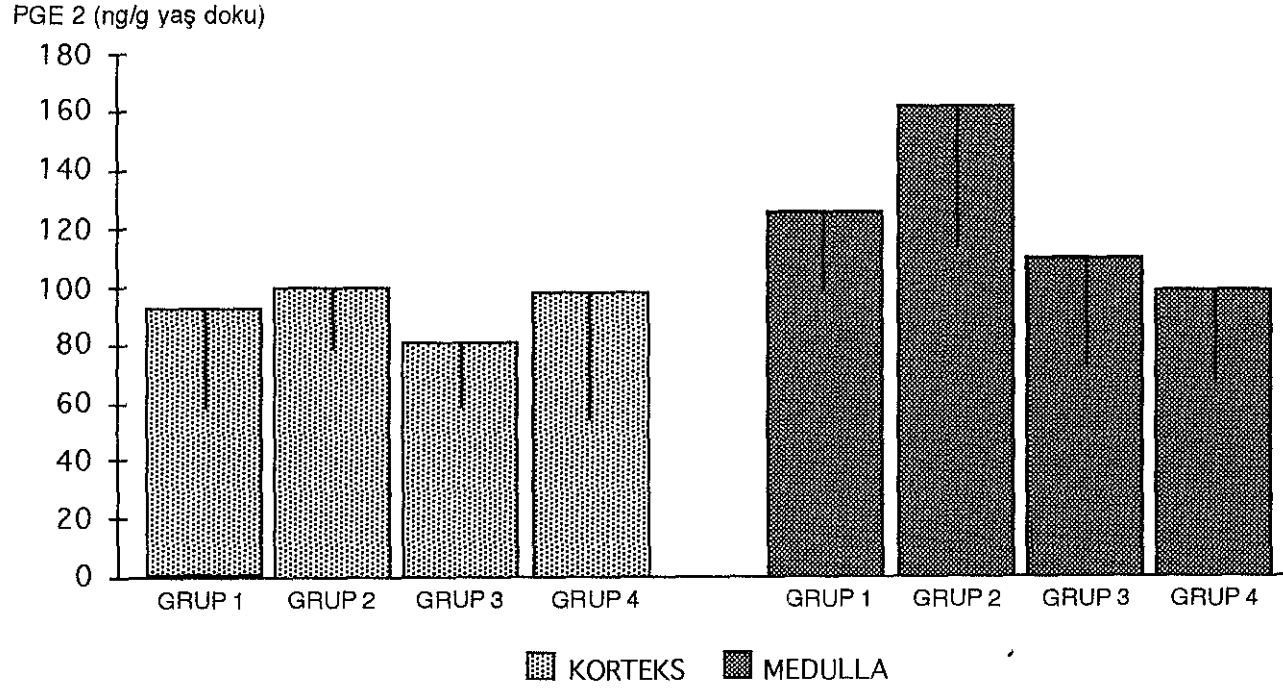
GRUPLAR	KOLESTEROL (mg/ml paket eritrosit)	FOSFOLİPİD (mg/ml paket eritrosit)	C/P (molar oran)
KONTROL	0.836 ± 0.057	3.34 ± 0.17	0.49 ± 0.02
HİPERKOLESTEROLEMİK	$1.147 \pm 0.079^*$	$3.03 \pm 0.15^*$	$0.75 \pm 0.06^*$

Tablo 7. Eritrosit membranı kolesterol, fosfolipid miktar ve oranları (Ort $\pm$ SS)

*: $p < 0.001$

Böbrek korteks ve medulla PGE₂ düzeyleri:

Normokolesterolemik sıçanlardan 6 ml/kg kanamaya maruz bırakılanlarında deney sonu böbrek korteksinin PGE₂ düzeyi 93.26 ± 44.17 ng/g yaş doku olup 12 ml kanamaya maruz kalanlarda bu değer istatistiksel anlama sahip değişiklik göstermemiştir (101.14 ± 28.73). Kolesterolde



Şekil 6. Böbrek korteks ve medullası PGE 2 düzeyleri.

zengin diyetle beslenmenin böbrek korteksindeki PGE₂ düzeylerine önemli katkısı dikkati çekmemiştir. Bu gruptaki sıçanlardan 6 ve 12 ml/kg kanamaya maruz kalanların korteksindeki PGE₂ düzeyleri sırası ile 81.49 ± 25.97 ve 99.44 ± 62.64 ng/g yaş doku olarak ölçülmüştür (Şekil 6).

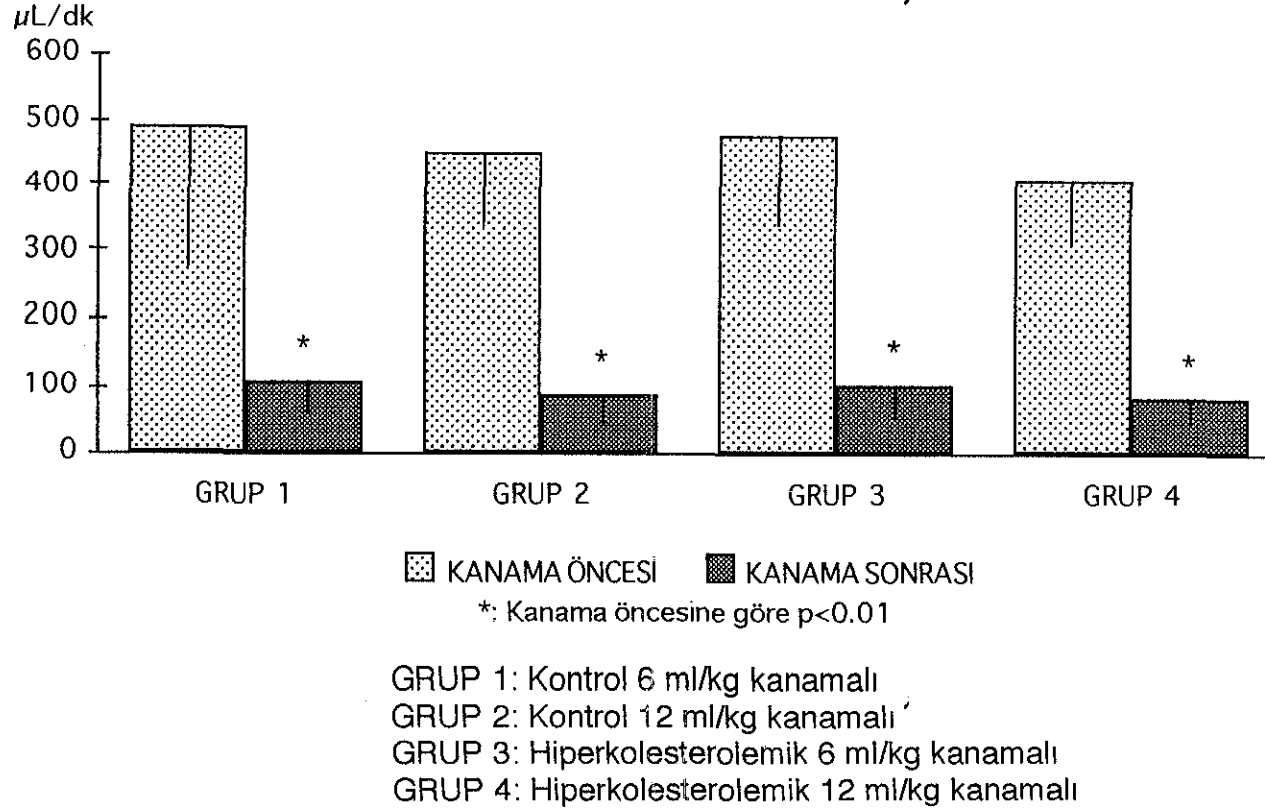
Böbrek medullasının PGE₂ düzeyleri de kortekstekine benzer olarak grup 1, 2, 3 ve 4'te sırasıyla, 126.78 ± 39.04 , 162.66 ± 47.11 , 111.07 ± 44.97 ve 100.15 ± 41.40 ng/g yaş doku olarak saptanmış olup, grup 2'ye ait PGE₂ değeri diğer gruplardan yüksek olmasına karşın, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 6). Her ne kadar medulla PGE₂ düzeyleri kortekstekinden yüksek olarak ölçülmüşse de aralarındaki farkın önemli olmadığı dikkati çekmiştir.

Glomerüler filtrasyon hız (GFR) değişiklikleri:

Kontrol sıçanlarda bir dakikada ultrafiltrasyona uğrayan plazma miktarı (GFR) ortalama 489.62 ± 178.15 μ l iken dakikada 6 ml /kg ve 12 ml/kg kanama sonrası sırası ile GFR nin 106.00 ± 72.62 μ l /dk ve 86.00 ± 37.55 μ l/dk ya düştüğü saptanmıştır ($p < 0.01$). 8 hafta süre ile %2 kolesterol içeren diyetle beslenmeye bağlı hiperkolesteroleminin GFR üzerine anlamlı etkisi dikkati çekmemiştir (Şekil 7). Bu grupta GFR 478.00 ± 204.51 μ l/dk dan 6 ml/kg/dk kanamadan sonra 104.77 ± 87.70 μ l ye 12 ml/kg/dk kanamadan sonra ise 83.22 ± 69.81 μ l/dk ya indiği görülmüştür ($p < 0.01$).

Serum kreatinin düzeylerindeki değişiklikler:

Kontrol gruplarında 6 ml/kg/dk kanamadan sonra yapılan ölçümlerde ortalama serum kreatinin düzeyi 1.075 ± 0.10 mg/dL, 12 ml/kg/dk kanamadan sonra ise 1.088 ± 0.17 mg/dL olarak saptanmış iken bu değerler hiperkolesterolemik gruplarda 6 ve 12 ml/kg/dk kanamaları takiben sırası ile 1.067 ± 0.21 ve 1.090 ± 0.18 mg/dL olarak ölçülmüştür. Kolesterol artışı serum Na⁺, K⁺ ve GFR düzeylerini değiştirmedeği gibi uygulanan kanama protokollerinin de serum sodyum ve potasyum değerleri üzerine önemli etkisi olmadığı dikkati çekmiştir (Tablo 8).



Şekil 7. Kanama öncesi ve sonrası GFR değerleri.

GRUPLAR	SERUM KREATİNİN mg/dL	SERUM SODYUM mEq/L	SERUM POTASYUM mEq/L
GRUP 1	1.075 ± 0.10	138.40 ± 3.84	4.85 ± 0.38
GRUP 2	1.088 ± 0.17	138.95 ± 3.85	4.83 ± 0.32
GRUP 3	1.067 ± 0.21	139.95 ± 3.40	4.80 ± 0.46
GRUP 4	1.090 ± 0.18	138.68 ± 4.12	4.84 ± 0.31

Tablo 8. Serum kreatinin ve sodyum düzeyleri (Ort ± SS):

FE Na, U_{Na}V, idrar akım hızları:

Kontrol sıçanlarda $3.31 \pm 1.31 \mu\text{l/dk}$, olan idrar akım hızı 6 ml/kg/dk lık kanamayı takiben $1.00 \pm 0.43 \mu\text{l/dk}$ ($p < 0.05$), 12 ml/kg/dk lık kanamadan sonra ise $0.87 \pm 0.21 \mu\text{l}$ olarak belirlenmiştir. Deney koşullarımızda oluşturulan hiperkolesteroleminin idrar akım hızında anlamlı değişiklik yapmadığı fakat bu gruptaki sıçanlarda da kanamaya bağlı olarak idrar akım hızlarının önemli azalışı dikkati çekmiştir (Tablo 9, Şekil 8).

İdrarla sodyum atılımına ($U_{Na} V$) 8 hafta kolesterolden zengin diyetle beslemenin önemli etkisi olmadığı halde 6 ve 12 ml/kg/dk kanamaya maruz bırakılma hem normokolesterolemik hemde hiperkolesterolemik sıçanlarda idrarla Na^+ itrahını anlamlı şekilde azaltmıştır (Tablo 9).

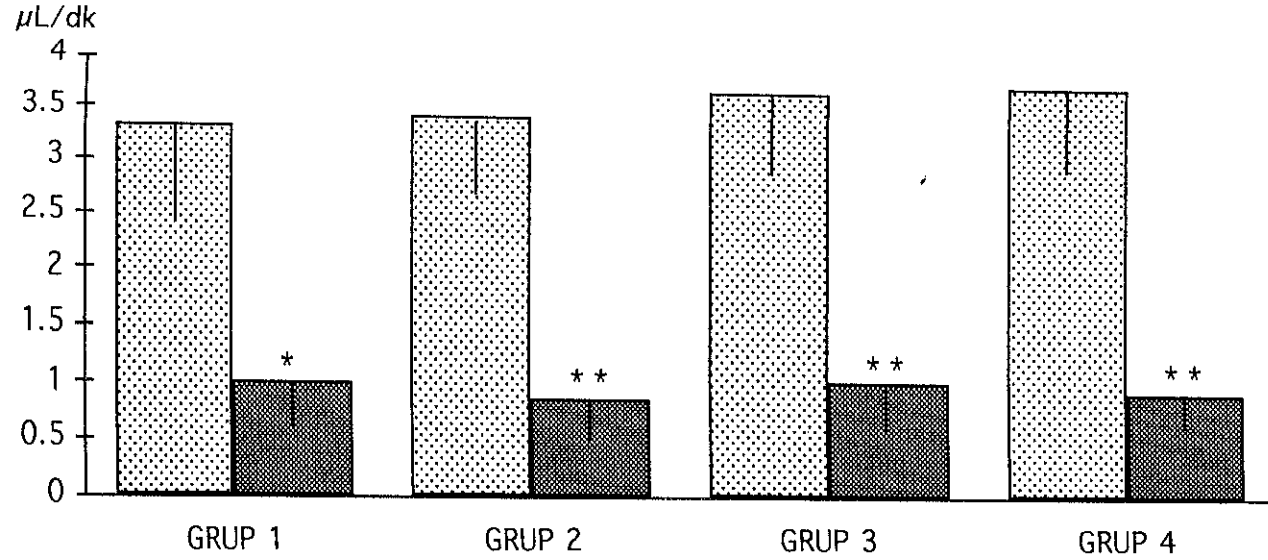
Ultrafiltrata geçen Na^+ miktarının idrarla elimine edilen kısmının % olarak ifadesi olan FE Na değerleri de diyet kolesterolünden olduğu kadar kanama şiddetinden de etkilenmemiştir. Hem 6 hemde 12 ml/kg/dk lık kanamalar benzer şekilde ve anlamlı FE_{Na} azalışına neden olmuşlardır (Tablo 9).

Kan basıncı değişiklikleri:

Kontrol grubunda ortalama kan basıncı değeri $83.33 \pm 8.03 \text{ mmHg}$ iken 8 hafta süre ile %2 kolesterol içeren yemle oluşturulan hiperkolesterolemi ortalama arter basıncını anlamlı değiştirmemiştir (88.00

GRUPLAR	KANAMA ÖNCESİ				KANAMA SONRASI			
	GFR $\mu\text{L/dk}$	IAH $\mu\text{L/dk}$	U_{NaV} $\mu\text{Eq/dk}$	FE_{Na} %	GFR $\mu\text{L/dk}$	IAH $\mu\text{L/dk}$	U_{NaV} $\mu\text{Eq/dk}$	FE_{Na} %
GRUP 1	470.37 $\pm$ 202.62	3.37 $\pm$ 1.27	0.23 $\pm$ 0.08	0.37 $\pm$ 0.09	106.00 $\pm$ 72.62*	1.00 $\pm$ 0.43*	0.042 $\pm$ 0.02*	0.28 $\pm$ 0.07*
GRUP 2					86.00 $\pm$ 37.35*	0.87 $\pm$ 0.21*	0.039 $\pm$ 0.02*	0.27 $\pm$ 0.06*
GRUP 3	436.50 $\pm$ 151.25	3.26 $\pm$ 1.19	0.28 $\pm$ 0.13	0.41 $\pm$ 0.08	104.77 $\pm$ 87.70*	1.03 $\pm$ 0.22*	0.038 $\pm$ 0.01*	0.30 $\pm$ 0.07*
GRUP 4					83.22 $\pm$ 69.81*	0.96 $\pm$ 0.19*	0.037 $\pm$ 0.008*	0.29 $\pm$ 0.04*

Tablo 9. Kanama öncesi ve sonrasında fonksiyonel böbrek parametreleri (Ort. $\pm$ SS). *: Kanama öncesine göre göre $p < 0.05$



□ KANAMA ÖNCESİ ■ KANAMA SONRASI

*: Kanama öncesine göre $p < 0.05$ **: Kanama öncesine göre $p < 0.01$

GRUP 1: Kontrol 6 ml/kg kanamalı
 GRUP 2: Kontrol 12 ml/kg kanamalı
 GRUP 3: Hiperkolesterolemik 6 ml/kg kanamalı
 GRUP 4: Hiperkolesterolemik 12 ml/kg kanamalı

Şekil 8. Kanama öncesi ve sonrası idrar akım hızları.

± 6.41 mmHg). 6 ve 12 ml/kg/dk lık kanamaları izleyen 20 dakika içinde birer dakika aralıklarla kaydedilen ortalama arter basıncı (OAB) değışiklikleri başlangıç değerin %'si olarak tablo 10' da gösterilmiştir. Bu tablodan görüleceği gibi bir dakika süre ile 6 ml/kg kanama yapılan kontrol ve hiperkolesterolemik gruplarda kanamadan hemen sonra (0. dakika) OAB başlangıç değerin sırasıyla % 60.89 ± 4.79 ve % 60.46 ± 6.60 'ına düşmüştür. 20 dakikalık OAB kayıt döneminde, kan basıncı artışı 12 dakikaya kadar her iki grupta da benzer seyir izlerken 13 ve 20 dakika arasında hiperkolesterolemik sıçanların kan basıncındaki yükselmenin anlamlı geciktiği dikkati çekmiştir. 20. dakikada saptanan OAB değışikliği normokolesterolemik sıçanlarda kanama öncesi değerin % 90.65 ± 4.62 'sine hiperkolesterolemik sıçanlarda ise kanama öncesi değerin % 75.43 ± 2.61 'ine ulaşmış olup bu iki değeri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$, Şekil 9).

12 ml/kg/dk kanatılmanın sebep olduğu kan basıncı değışikliklerinin sonuçları da tablo 10 ve şekil 10 da gösterilmiştir. Bir dakikada vücut ağırlığının kg'ı başına 12 ml kanatılarak başlangıç değerin % 40.59 ± 8.46 sına düşürülen ortalama arter basıncı normokolesterolemik hayvanlarda 20 dakikalık sürenin sonunda başlangıç değerin % 70.99 ± 8.66 'sına ulaşmıştır. Aynı kanamaya maruz bırakılan hiperkolesterolemik sıçanlarda ise 20. dakikada kan basıncı değeri başlangıç değerin ancak % 54.09 ± 10.97 'si olarak saptanmıştır. Şekil 10 da belirgin olarak görüldüğu gibi 12 ml/kg/dk lık hemorajinin neden olduğu kan basıncı azalışının normale dönme yönündeki artışı ilk 12 dakikada kontrol ve hiperkolesterolemik sıçanlarda farklı değiken, 13. dakikadan itibaren normokolesterolemik sıçanların kan basıncı artışı daha fazla bulunmuş ve hiperkolesterolemik grupta ise kan basıncı düzelmesi anlamlı olarak gecikmiştir.

Plazma renin aktivitesi değışiklikleri:

Kan basıncının erken düzenlenmesinde böbreklerin rolü renin-anjiotensin sistemi ile olduğu için, tüm gruplarda kanama öncesinde ve sonrasında plazma renin aktiviteleri ölçülmüştür. Tablo 11'dende görüldüğu gibi kolesterolden zengin diyetle 8 hafta beslenmenin plazma renin aktivitesine anlamlı etkisi saptanmamıştır. Kontrol sıçanlarda kanama öncesi plazma renin aktivitesi ortalama 5.14 ± 0.76 ng Angl/ml/saat iken

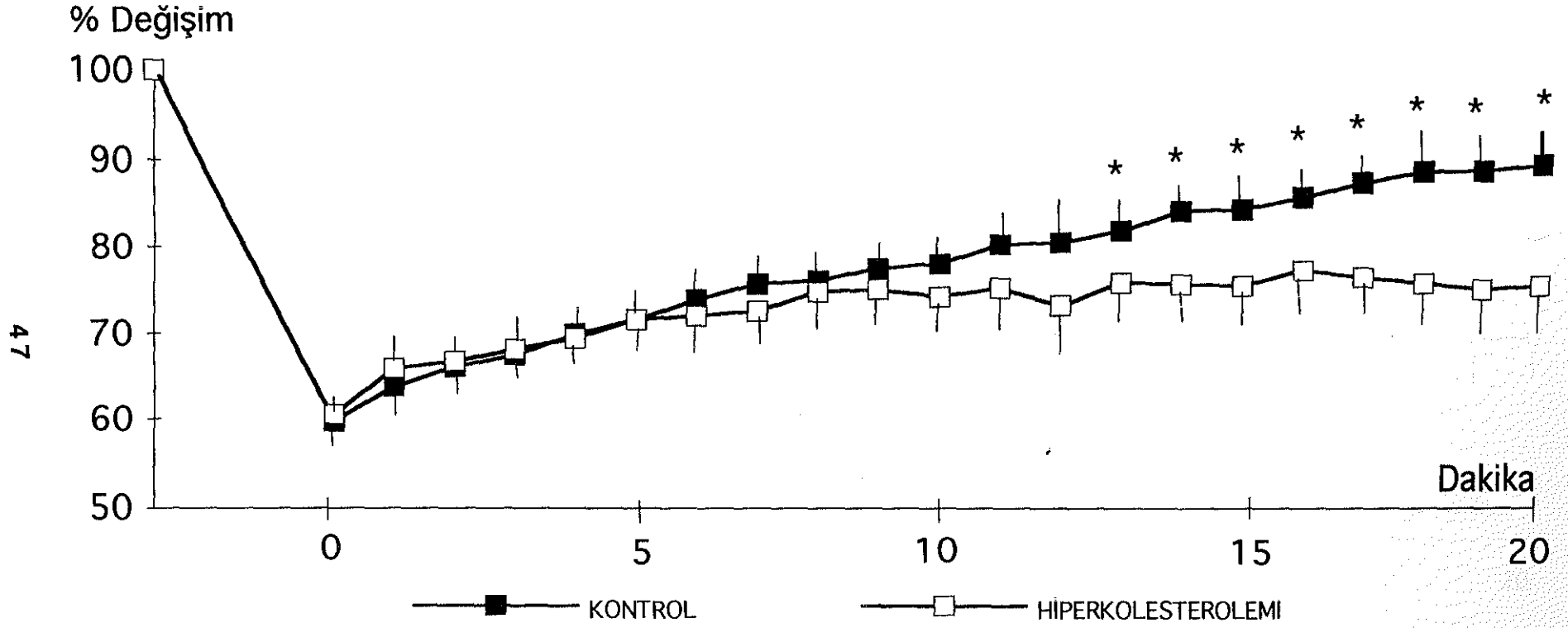
dakikada 6ml/kg hızla kanatılarak kan basıncı başlangıç değerinin % 60.89 $\pm$ 4.79'una düşürüldükten 20 dakika sonra sıçanlarda plazma renin aktivitesi anlamlı artarak 7.64 $\pm$ 0.57 ng Angl/ml/saat'e yükselmiştir (p<0.05). Dakikada 12 ml'lik kanamaya maruz bırakılarak kan basınçları başlangıç değerinin %40.59 $\pm$ 8.46'sına düşürülen kontrol sıçanlarda 20 dakika sonra yapılan ölçümlerde ise plazma renin aktivitesinde daha fazla artış olduğu (12.22 $\pm$ 0.79 ng Angl/ml/saat) dikkati çekmiştir (p<0.01). Hiperkolesterolemik sıçanların kanamaya cevaben plazma renin aktivitelerinde gözlenen değişiklikler de normokolesterolemiklerinkine benzer bulunmuşsa da (Şekil 11, Tablo 11), birim renin aktivitesinin sebep olduğu kan basıncı artışı dikkate alındığında iki grup arasında anlamlı fark saptanmıştır. Şekil 12' de görüldüğü gibi kontrol grubunda 6 ve 12 ml' lik kanamaya cevaben artan bir birim renin aktivitesi kan basıncında sırası ile 10.23 $\pm$ 3.80 ve 4.48 $\pm$ 1.83 mmHg'lık basınç yükselmesine neden olurken, hiperkolesterolemik sıçanlarda benzer hemorajiye yanıt olarak salgılanan birim renin aktivitesinin sebep olduğu kan basıncı yükselmesi sırası ile 6.53 $\pm$ 2.27 ve 2.52 $\pm$ 0.81 mmHg olarak hesaplanmıştır (p<0.05).

GRUPLAR	Başlangıç MAP (mmHg)	0. Dakika (%)	1. Dakika (%)	2. Dakika (%)	3. Dakika (%)	4. Dakika (%)	5. Dakika (%)	6. Dakika (%)	7. Dakika (%)	8. Dakika (%)	9. Dakika (%)	10. Dakika (%)	11. Dakika (%)	12. Dakika (%)	13. Dakika (%)	14. Dakika (%)	15. Dakika (%)	16. Dakika (%)	17. Dakika (%)	18. Dakika (%)	19. Dakika (%)	20. Dakika (%)
GRUP1	83.33	60.89	65.24	67.13	69.15	71.37	71.07	76.17	77.36	76.81	79.81	80.15	82.92	82.75	84.22	85.95	86.30	87.36	87.72	90.10	90.16	90.65
	± 8.03	± 4.79	± 6.47	± 6.21	± 7.56	± 6.83	± 6.80	± 11.49	± 10.30	± 8.10	± 10.01	± 9.51	± 11.30	± 8.66	± 9.39	± 7.64	± 6.68	± 6.49	± 4.51	± 5.35	± 4.70	± 4.62
GRUP2	88.00	40.59	42.02	42.42	43.41	45.60	46.90	47.59	49.76	51.58	53.13	54.25	56.41	58.28	60.44	62.02	63.64	65.34	67.66	67.95	69.69	70.99
	± 6.41	± 8.46	± 9.17	± 9.90	± 10.53	± 9.13	± 8.99	± 8.74	± 8.59	± 9.07	± 9.27	± 10.21	± 10.17	± 10.37	± 10.91	± 11.18	± 10.89	± 11.03	± 10.46	± 10.15	± 9.34	± 8.66
GRUP3	80.77	60.46	65.90	66.47	68.12	69.40	71.46	71.94	72.49	74.69	74.94	74.18	75.19	74.37	75.81	75.66	75.43	76.05	76.47	75.81	75.06	75.43
	± 9.06	± 6.60	± 5.01	± 4.88	± 4.88	± 5.73	± 6.91	± 7.56	± 6.47	± 6.29	± 5.92	± 4.55	± 5.49	± 4.37	± 2.74*	± 4.62*	± 2.64*	± 4.06*	± 3.47*	± 2.46*	± 1.79*	± 2.61*
GRUP4	88.61	31.46	40.38	40.60	40.04	40.51	42.18	41.14	42.35	44.57	46.43	48.36	50.76	50.95	48.00	50.24	52.67	53.25	55.68	53.81	53.64	54.09
	± 12.12	± 4.74*	± 4.50	± 6.65	± 7.13	± 8.28	± 9.51	± 10.56	± 10.47	± 9.93	± 9.47	± 9.25	± 10.39	± 9.32	± 6.19*	± 9.50*	± 10.34*	± 10.56*	± 12.54*	± 10.17*	± 10.12*	± 10.97*

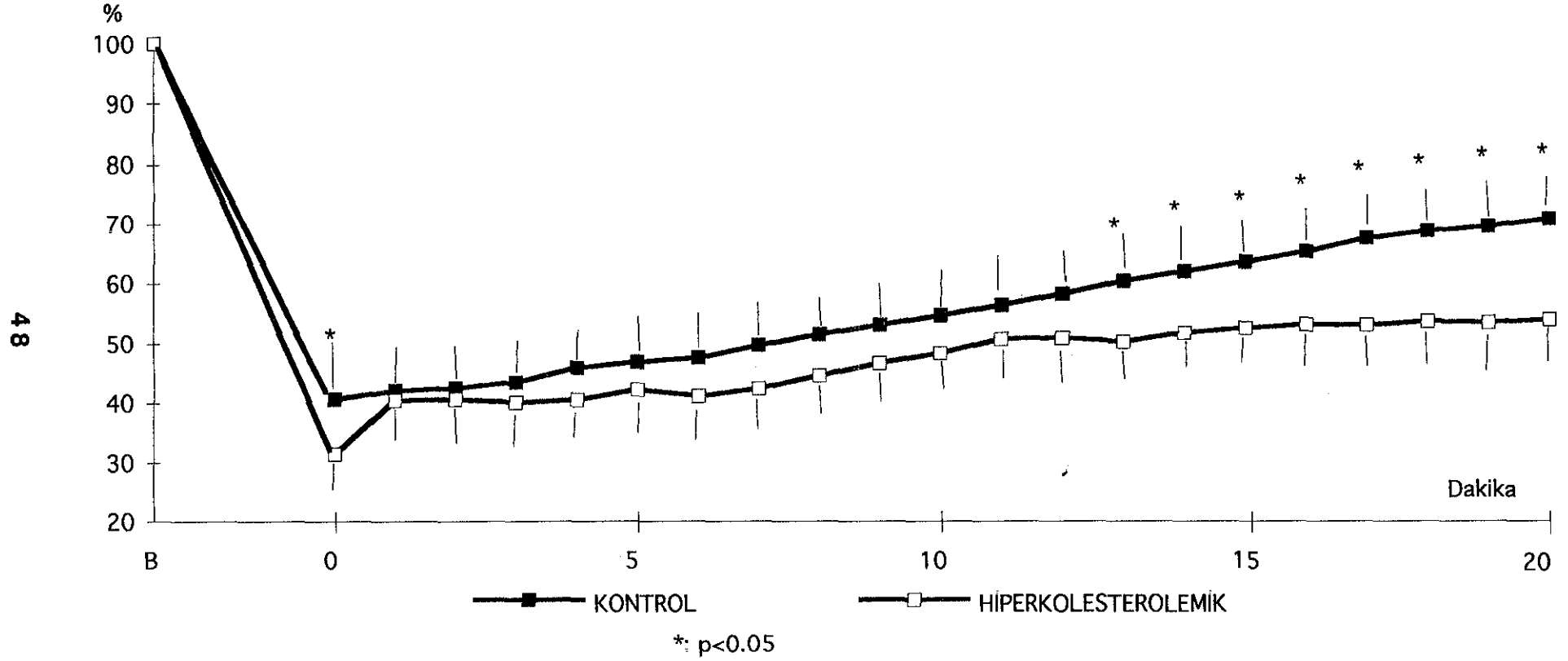
Tablo 10. Kanama sonrası ortalama arteriyel basıncıdaki % değişimler (Ort ± SS).

*:Grup 3 grup 1'e, grup 4 grup 2'ye göre p<0.05

ŞEKİL 9: 6 ml/kg kanama sonrası ortalama arter basıncındaki % değişiklikler



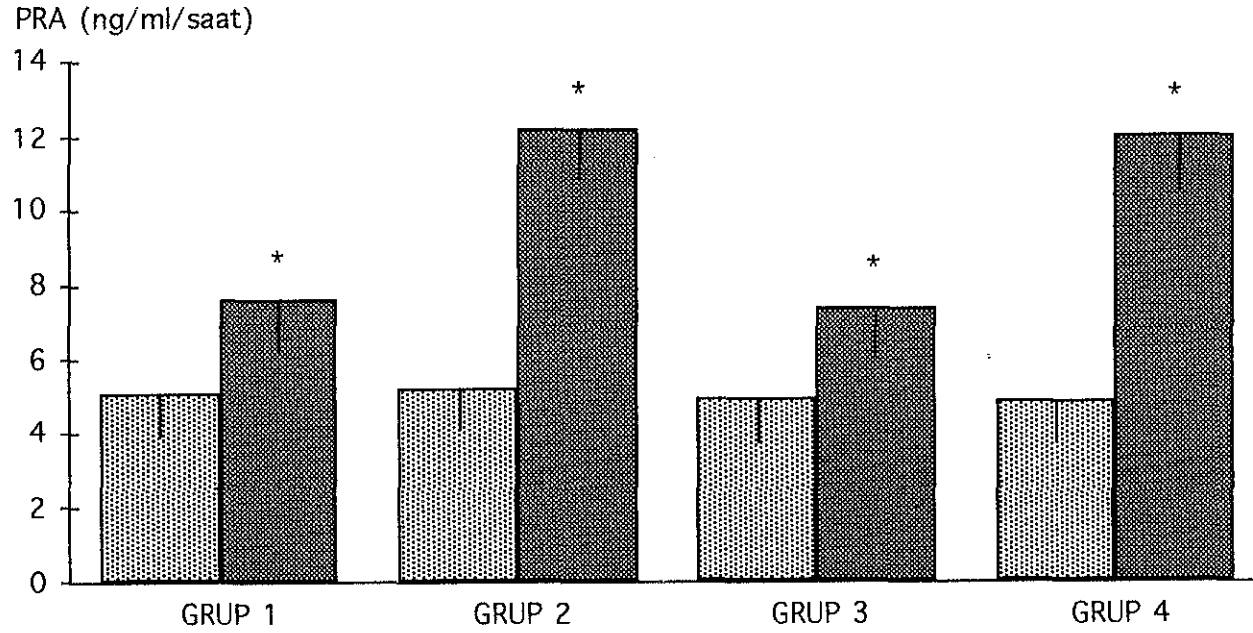
Şekil 10: 12 ml/kg miktarda kanama sonucu ortalama kan basıncındaki değişimler



GRUPLAR	Kanama öncesi Plazma Renin Aktivitesi (ng Ang I /ml/saat)	Kanama sonrası Plazma Renin Aktivitesi (ng Ang I /ml/saat)
GRUP 1	5.14 ± 0.76	7.64 ± 0.57*
GRUP 2		12.22 ± 0.79*
GRUP 3	4.91 ± 0.70	7.37 ± 0.50*
GRUP 4		12.07 ± 1.18*

Tablo 11. Tüm gruplarda kanama öncesi ve sonrasında belirlenen Plazma Renin Aktivitesi değerleri (Ort ± SS).

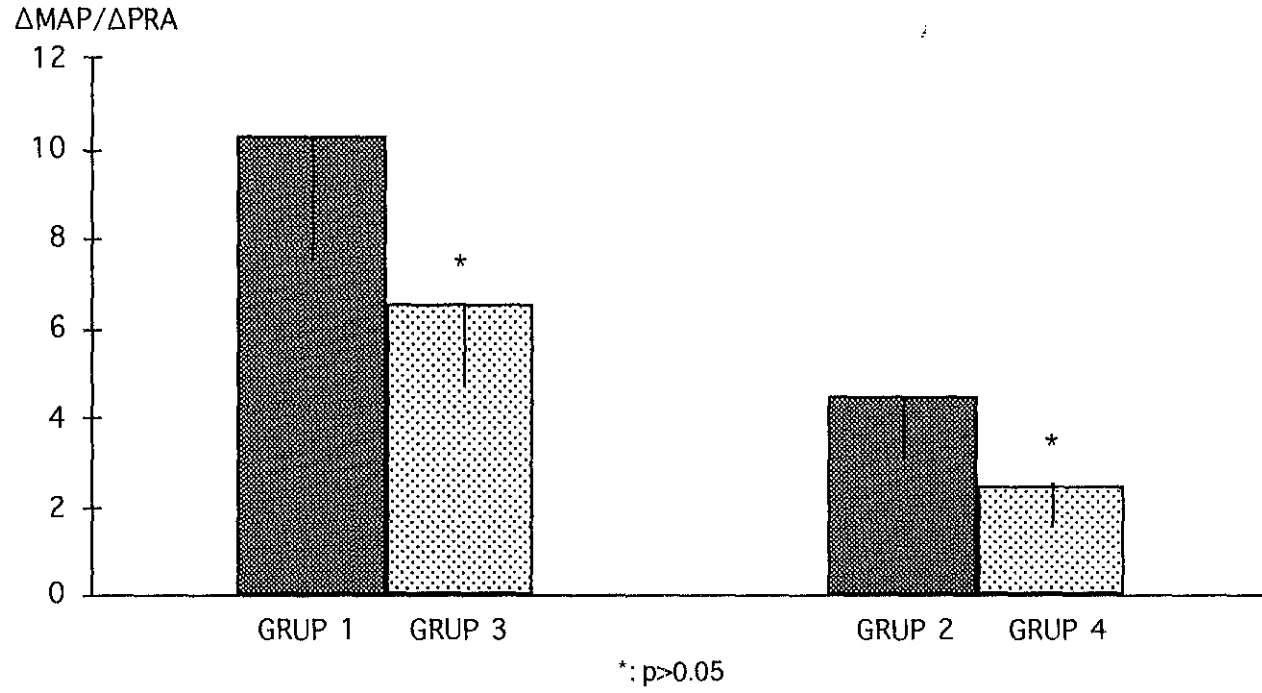
*: Kanama öncesi ve sonrası p<0.05



*: Kanama öncesine göre $p < 0.05$

GRUP 1: Kontrol 6 ml/kg kanamalı
 GRUP 2: Kontrol 12 ml/kg kanamalı
 GRUP 3: Hiperkolesterolemik 6 ml/kg kanamalı
 GRUP 4: Hiperkolesterolemik 12 ml/kg kanamalı

Şekil 11. Kanama öncesi ve sonrası PRA düzeyleri.



GRUP 1: Kontrol 6 ml/kg kanamalı
 GRUP 2: Kontrol 12 ml/kg kanamalı
 GRUP 3: Hiperkolesterolemik 6 ml/kg kanamalı
 GRUP 4: Hiperkolesterolemik 12 ml/kg kanamalı

Şekil 12. PRA'daki birim artışa karşılık ortalama arteriyel basıncındaki değişiklik

TARTIşMA

Bilindiği gibi sadece hayvansal hücrelerde bulunan kolesterolü hücre ya kendisi sentezler veya plazmadan resept rel veya reseptör dışı yolla alarak kullanır ve fazlasında esterleştirerek depolar. Kolesterolde zengin lipoproteinlerden hücre membranına kolesterol alınması da bir başka kolesterol kazanç yoludur. Kolesterol kaybı ise hücre membranından plazmadaki lipoproteinler aracılığı ile kolesterolün uzaklaştırılması esasına dayanır. Bu nedenle plazma lipid değişikliklerinden hücre membranının lipid bileşimi etkilendiğinden hiperkolesterolemi hücre membran akışkanlığında, dolayısıyla membran fonksiyonlarında anlamlı değişikliğe neden olur. Kalp kasında beta reseptör sayısı azalışı ile bu oran artışının birlikteliği bu konuda yapılan çalışmalardan sadece birisidir. (87). Eğer tüm hücrelerde benzer kolesterol metabolizması işliyor ve hiperkolesterolemi tüm vücut hücre membranlarında benzer değişikliklere yol a ıyorsa kan hacim ve basıncındaki değişikleri algılayan böbrek hücrelerinin algılama ve yanıtılama mekanizmasının da bozulması beklenir. Bu hipotezi incelemek amacı ile 8 hafta süre ile %2 kolesterol ve %0.2 taurokolat içeren diyet kullanılarak sıçanlarda hiperkolesterolemi oluşturma girişimi diğerlerinin ve bizim önceki çalışmalarımızda (1, 96, 97, 98, 99, 132) kullanılmış olup, artmış plazma ve doku kolesterol değerleri bu hipotezin incelenmesi için uygun deneysel koşulların oluşturulduğunun kanıtıdır.

8 hafta süre ile kolesterol içeriği arttırılmış yem ve normal musluk suyu ile beslenen sıçanların bu süre esnasındaki yem ve su tüketiminin normal

sıçan yemi ile beslenenlerinkinden farklı olmayışı bu hayvanların kontrol grubu ile izokalorik beslenebildiklerini göstermektedir. Esasen kontrol grubundaki sıçanların benzer kilo artışı sergilemeleri de hiperkolesterolemik yemle beslenen hayvanların birinci hafta hariç izokalori aldıklarının en güzel destekleyicisidir. İlk hafta kolesterolden zengin besinin az tüketilmesini sıçanların tat ve kokusu kontrol yemden oldukça farklı olan bu yeni besini yadırgamaları ile açıklamak mümkündür. Kalori kısıtlanmasının ve tuz farkının böbrek fonksiyonlarına ve renin salgısına etkisi (33, 106) dikkate alındığında bizim çalışmamızda aynı miktar yem tüketilmesi nedeni ile böbrek fonksiyonlarına her iki grupta farklı etki söz konusu olmamıştır.

8 hafta kolesterolden zengin beslenme ile plazma kolesterolünde %162.34'lük bir artış olması ve karaciğerde önemli kolesterol birikimi hiperkolesterolemi tablosunun oluştuğunun lehine isede fonksiyonel bozukluklar için bu sürenin yeterli olduğunun kanıtı olarak kabul edilemez. Ancak gerek laboratuvarımızdan yayınlanan önceki çalışmalar (1, 99, 132) gerekse eritrosit membranında kolesterol/fosfolipid oranının artışı bu 8 haftalık sürenin fonksiyonel bozuklukların ortaya çıkması için yeterli olduğunu düşündürmüştür. Hiperkolesterolemik sıçanlarda plazma total kolesterol düzeyi artığı halde HDL-K fraksiyonunda anlamlı değişiklik olmayışı artan kolesterolün daha çok LDL ve VLDL fraksiyonlarındaki kolesterole ait olduğunu gösterir. Hiperkolesterolemik sıçanlarda düşük HDL-K ve yüksek total kolesterol Tolins ve ark (126) tarafından da bildirilmiştir. Kolesterolün olumsuz etkileri LDL fraksiyonundaki artış ve HDL fraksiyonundaki kolesterolün azalışı ile birliktelik gösterdiğinden (117) hiperkolesterolemik sıçanların hücrelerinden kolesterolün karaciğer yönünde uzaklaştırılmasının yetersizliği ve hücrelerde birikmesi beklenir ki eritrosit membran kolesterolündeki artış bu beklentiyi doğrulamaktadır. Membran kolesterol/fosfolipid oranının artışı ve membran akışkanlığının azalışı ve hücre fonksiyonlarının bozulması ile eş anlamlı kabul eden yayınlar (23, 29) dikkate alındığında hem karaciğer hemde eritrosit fonksiyonlarının olumsuz etkilendiğinin kabul edilmesi gerekir ve önceki yayınlar bunu desteklemektedir (23, 29, 44, 91, 125). Ancak plazma, karaciğer ve eritrosit membran kolesterolünün hiperkolesterolemik hale

gelmiş hayvanlarda anlamlı artışına karşın böbrek korteks ve medullasının kolesterol içeriğinin değişmeyişi bütün organların plazma kolesterolünden eşit veya eş zamanlı zarar görmediğini, bazı organların plazma kolesterol artışına daha az duyarlı olabileceğini düşündürmüştür. Kontrol grubunun böbrek doku kolesterolü, yaşla doku kolesterol değişikliğini inceleyen Kalen ve ark'nın (71) bildirdiği böbrek kolesterol, fosfolipid oranlarımıza tam uyum içinde olduğu için hiperkolesterolemik sıçanların böbrek korteks ve medullasında kolesterol fosfolipid oranının anlamlı değişmeyişi bu organın plazma kolesterol değişikliğine daha az duyarlı olabileceği görüşünü güçlendirmektedir. Çalışmamızda kolesterol/fosfolipid oranı ile hücre fonksiyonları arasında yakın ilişkiyi bildiren yayınları doğrulayacak şekilde, bu hayvanların böbreklerinde kolesterol birikmeyişi fonksiyonların kontrolden farklı olmayışı da eşlik etmiştir ve bu da plazma kolesterol artışlarına böbreklerin daha az duyarlı olabileceği hipotezimizi pekiştirmiştir. Diyet kolesterolünün organ kolesterol düzeylerine etkisini inceleyen Heller (54) kobaylarda adrenal, karaciğer, dalak ve ince barsakların kolesterol birikiminde öncelikli organlar olmasına karşın böbrekleri bunlar içinde saymayışi bizim düşüncemizi teyid ediyor gibi görünüyor. Diyet kolesterolüne koroner arter ve böbrek damar yatağında farklı cevap bulan Kamanna ve ark'nın bulgularıda (72) bizimle hemfikiridir. Çalışmamızda böbrek fonksiyonu olarak GFR ve idrarla atılan Na^+ fraksiyonu incelenmiş ve her ikisinde hiperkolesterolemik hale gelen sıçanlarda kontrolden anlamlı farklılık göstermediği bulunmuştur. Tolins ve ark hiperkolesterolemi oluşturdıkları sıçanlarda Na^+ ve diğer elektrolitlerin itrahını değişmemiş bulmaları (126) kolesterolden böbrek fonksiyonlarının etkilenebilmesi için ikinci bir faktör daha gerekir diyen Rubattu ve ark (105) nın sonuçları, %3 kolesterollü diyetle 8 hafta beslenen sıçanlarda böbrek fonksiyonlarının bozulmadığını bildiren Hattori ve ark'nın çalışmaları (53) bizim sonuçlarımız ile uyum içindedir. Gröne ve ark (46) nın diyetle kolesterol ilavesi ile hiperkolesterolemik hale getirdikleri sıçanlarda böbrek fonksiyonlarındaki bozulma ve glomerulosklerozisi 80. güne kadar gözlemeyişleri ve 50-80 güne kadar GFR'ın bozulmayışi da bulgularımızla uyum içindedir. Plazma elektrolitleri ve kreatinin düzeylerinin kontrolden farklı olmayışı da hiperkolesterolemide böbreklerin normal fonksiyona sahip

olduğunu gösteren ilave bulgulardır Ancak diyet kolesterolünün böbreklere etkisini farklı bulmayan yayınların da göz ardı edilmemesi gerekir. Daha çok hiperkolesteroleminin glomerulosklerotik etkisini inceleyen bu çalışmalarda 8 haftalık sürenin genellikle böbrek fonksiyonlarının etkilenmediği kabul görmektedir (46, 53) ve bu nedenle bizim sonuçlarımıza aykırı düşmemektedir.

Böbrekler kan volümü üzerinden olan kan basıncı değişikliklerine çok duyarlı olup kan basıncını normale çevirmede %100' e yakın verimle çalışan organlardır. Bu nedenle hemoraji ile kan basıncı düşürülmesi deneysel çalışmalarda sık başvuru bir yöntemdir. Ön çalışmalarımızda sıçanlarda kan basıncını başlangıç değerinin % 60 ve 40'ına kısa sürede düşürmek için kg ağırlık başına 6 ve 12 ml kanatılmanın yeterli olduğu ve bunu hayvanların çok iyi tolere edebildikleri gözlenmiştir. Oliver ve ark (95) 4 ve 2 ml/dakika hemoraji ile kan basıncını başlangıç değerinin %65 ine çabuk veya yavaş düşürdüklerinde tavşanların bu basınç değişikliklerini renin ve antidiüretik hormon salgısını arttırarak düzenlemeye çalıştığını gösteren yayınları ve sıçanlarda bizimkine benzer bir hemoraji modeli ile kan basıncını düşüren Carlsson ve ark sonuçları (19) kullandığımız yöntemin çok uygulanan ve sonuçlarımızın literatür bulguları ile güvenle karşılaştırılabilir bir model olduğunu göstermektedir.

Dakikada 6 ml/kg kanama yapılarak kan basıncı başlangıç değerinin 60.89 ± 4.79 'una düşürülen kontrol sıçanlarda bu basınç düşmesi 20 dakika içinde yavaş yavaş yükselerek 20 dakikada hemoraji öncesi değerin 90.65 ± 4.62 ' sine dönmüştür. Halbuki aynı şiddette kanama yapılan hiperkolesterolemik sıçanların kan basıncı düzelme eğrisi 13. dakikadan itibaren kontrol değerlerden belirgin olarak geç kalmış olup, 20. dakikada başlangıç değerinin ancak 75.43 ± 2.61 'ine dönebilmiştir. 12 ml/kg/dk kanama ile kan basıncı kontrol grubunda 40.59 ± 8.46 'ya düşerken hiperkolesterolemik hayvanlarda aynı miktar kanama anlamlı olarak daha fazla kan basıncı düşmesine neden olmuş fakat birinci dakikada basınç tekrar kontroldeki değeri yakalamış ve 12 dakika süre ile benzer seyir izlemişken 13. dakikadan itibaren kan basıncındaki düzelme bu grupta da önemli bir gecikme sergilemiştir. Bilindiği gibi refleks ve hormonal diğer kan basıncı düzenleme mekanizmaları ilk saniye ve

dakikalar içinde devreye girerek kan basıncındaki değişiklikleri düzeltmeye çalışırlar (47). Bunların başarısız kalışları halinde basınçtaki değişikliğin düzeltilmesi böbreklerin sorumluluğuna bırakılır. Orta şiddetteki hemorajiye cevaben ilk 12 dakikada iki grup arasında kan basıncı düzelmesinin farklı olmayışı erken devrede görev alan kan basıncı düzenleyicilerinin normal kaldığı ancak daha geç devreye giren böbreklere ait düzenlemenin etkilendiğini düşündürmüştür. Kan basıncında %40 lık düşmeye ilk dakikada kontrol ve hiperkolesterolemik gruplarda farklı cevap olmayışına karşın %60' lık basınç düşmesi yapan kanamanın kan basıncını hiperkolesterolemik grupta daha fazla düşürmesi ilk 60 saniye içinde kan basıncındaki değişiklikleri düzenleyen refleks mekanizmaların hiperkolesterolemiklerde etkilendiğini fakat sonra devreye giren hormonal mekanizmaların farklı olmadığını düşündürmektedir. Hiperkolesteroleminin sıçanlarda sinir ileti hızında gecikmeye neden olduğunu gösteren çalışmaların sonuçları bizim bu görüşümüzle uyum içindedir (1).

Böbrekler kan basıncındaki düşmeyi renin angiotensin sistemi üzerinden hem basıncı hemde hacmi değiştirerek %100 luk bir düzeltme ile önlerler. Wang ve ark'nın (127) çalışmalarında hemorajiyi takiben 10 dakikada böbreklerden salgılanan renin aktivitesinin % 100 lük artış gösterdiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da kan basıncında ortalama %40 lık azalma yapan hemorajiye cevaben kontrol sıçanların plazma renin aktivitelerinin 20. dakikada anlamlı olarak artışı literatürdeki bulgularla paralellik göstermiştir. Kan basıncının düzelmesi önemli olarak geciktiği halde gerek başlangıç gerekse hemoraji sonrası 20. dakikada yapılan ölçümler hiperkolesterolemik sıçanların plazma renin aktivitesinin kontrolden farklı olmadığını ortaya çıkarmıştır.

Plazma renin aktivitesinin çoğunluğu böbrekten, %10 kadarıda böbrek dışı organlardan salgılanır. Öyle görülüyorki 8 hafta kolesterolden zengin yemle hiperkolesterolemik hale getirilmiş sıçanlarda böbrek kolesterol miktarında değişme olmayışına diğer böbrek fonksiyonları gibi renin salgı değişmeyişi de eşlik etmiştir. Yani bizim deney koşullarımızda oluşturulan hiperkolesterolemi, kan basıncındaki düşmelerin böbrekler tarafından algılanmasında ve buna cevaben renin salgısında herhangi bir değişmeye neden olmamıştır.

Juxtaglomeruler aparatustan renin salgılatan en önemli etkenler renal perfüzyon basıncının azalmasıdır. Buna ilaveten makula densaya ulaşan Na^+ ve Cl^- miktarının azalışı veya sempatik tonus artışı renin salgısının artışından sorumlu tutulmaktadır (50). Diğer yandan böbrekten bol miktarda dolaşıma geçen PGE_2 ve PGI_2 ninde renin salgısında önemli role sahip oldukları ileri sürülmektedir (31). Hem kontrol hemde hiperkolesterolemik sıçanlarda hemorajinin yaptığı kan basıncındaki düşmeye GFR'de anlamlı azalış ve plazma renin aktivitesinde önemli artış eşlik etmiştir. Ancak hiperkolesteroleminin GFR ve renin salgısına ilave etkisi olmamıştır. Plazma Na^+ ve K^+ düzeylerinin, fraksiyone Na^+ atılımının ve böbrek PGE_2 düzeylerinin iki grup arasında farklı olmayışı böbreğin otokontrol mekanizmasının hiperkolesterolemiden etkilenmediğini düşündürmektedir. Hiperkolesterolemik ve kontrol sıçanlarda benzer kan basıncı düşmelerinden sonraki GFR azalışlarının iki grupta farksız oluşuda otokontrolün hiperkolesterolemiden etkilenmediğinin doğrudan kanıtıdır.

Hiperkolesterolemi ile doku prostoglandinleri arasındaki ilişkiyi inceleyen pekçok yayın olmasına karşın bunların sonuçları çelişkilidir. Kamanna ve ark böbrek ve koroner arter PG düzeylerinde hiperkolesterolemiye bağlı azalış olduğunu ileri sürerken Bank renal endotelial PGE_2 düzeylerinin arttığını göstermiştir (7). Wang ve ark ise bizim gibi hiperkolesterolemiden PGE_2 düzeylerinin etkilenmediğini bildirmiştir (128). PGE_2 ve I_2 eşit renin arttırıcı güce sahipse PGI_2 'nin endotelde bol bulunmasına karşın, E_2 'nin yerleşimi daha çok tübüler hücrelerdir. Gerçi biz PGI_2 'yi ölçmedik ama PGE_2 'nin değişmeyişi bizi hiperkolesterolemiden, I_2 'nin de etkilenmediğini düşündürmeye yönlendirdi.

Renin anjiotensin aktivitesi benzer olduğu halde hiperkolesterolemik sıçanlarda kanama sonrası kan basıncında düzelme olmayışını üç şekilde açıklamak mümkündür. Bunlardan birisi hiperkolesterolemik sıçanlardan salgılanan reninin biyoaktivitesinin bozuk oluşu ki bizim ölçüm yöntemimiz reninin anjiotensinojeni anjiotensin I'e çevirme esasına göre yapıldığından bu mümkün değildir. İkinci olasılık Anjiotensin I'in daha aktif şekil olan II'ye dönüşümünün yetersiz oluşu veya üçüncüsü de periferik damar düz kas hücrelerinin Angiotensin II'ye yanıtının değişmiş olabileceğidir. Sonuçlarımız birim renin aktivitesine isabet eden kan basıncı değişikliği

şeklinde yorumlandığında açık bir şekilde görüldüğü gibi birim Angiotensin I 'in neden olduğu kan basıncı yükselmesi (Δ Kan basıncı/ Δ Renin aktivitesi) kontrol sıçanlarda hiperkolesterolemiklere göre bariz olarak daha fazla bulunmuştur. Bu farklılık hiperkolesterolemik sıçanlarda böbreklerden salgılanan renin aktivitesinin farklı olmayışına karşın anjiotensin çevirici enzim veya düz kas yanıt eksikliğinden kaynaklanabilecek bir bozukluk olduğunun belirtisidir.

Sonuç olarak diyebilirizki hiperkolesterolemide kan basıncındaki değişiklikleri böbreğin algılaması ve bunu yanıtlama mekanizmalarında bozukluk olmadığı halde böbrek dışı angiotensin çevirici enzim veya damar düz kasının Anjiotensin II ye yanıtında muhtemel bir bozukluk nedeni ile kan basıncı düzelmesi anlamlı olarak gecikmektedir. Bulgularımızın ortaya çıkardığı bir başka gözlem ise plazma kolesterolünden her organın farklı etkilendiği ve böbreklerin plazma kolesterol değişikliğine duyarlılığı az olan organlar arasında olduğudur. Ancak bu konuda kesin kanıya ulaşılması için daha detaylı çalışmaların yapılması gereklidir.

ÖZET

Hiperkolesteroleminin böbreğin homeostatik fonksiyonlarına etkisini belirlemek amacı ile düzenlenen bu çalışmada, 8 hafta süresince %2 kolesterol ve %0.2 taurokolik asit eklenmiş diyet ile beslenen iki grup ve ticari sıçan yemi ile beslenen iki grup olmak üzere toplam dört grup albino sıçan kullanılmıştır.

8 haftalık sürenin sonunda kolesterol eklenmiş diyet alan hayvanlarda plazma, karaciğer ve eritrosit membranı kolesterol düzeylerinde anlamlı artış gözlenirken, böbrek korteks ve medullasında benzer bir artış dikkati çekmemiştir. Bunun yanında eritrosit membranı fosfolipid miktarında azalma ve dolayısıyla membran akışkanlığının bir göstergesi olan kolesterol/fosfolipid oranlarında artış dikkati çekmiştir.

6 ml/kg/dk ve 12 ml/kg/dk miktarında kanama yapılan hiperkolesterolemik sıçanların kanama sonrası 20 dakika süresince kan basıncındaki yükselme, kontrol diyet alan sıçanlara göre belirgin şekilde geri kalmıştır. Buna karşın plazma renin aktivitesinde kanamanın neden olduğu artış, hiperkolesterolemik ve normokolesterolemik gruplarda farklı olmamıştır. Benzer şekilde, fonksiyonel böbrek parametrelerinin de hiperkolesterolemik diyetten etkilenmediği gözlenmiştir.

Çalışmamızın bulguları değerlendirildiğinde, 8 hafta süre ile %2 kolesterol ve %0.2 taurokolik asit eklenmiş diyetin böbrek fonksiyonlarını ve böbreklerin kan basıncındaki düşmeleri algılama yeteneğini bozmadığı, buna karşın ACE aktivitesi ve/veya damar düz kasının ANG II'ye duyarlılığının azalmış olabileceği sonucuna varılmıştır.

SUMMARY

In order to investigate the effect of diet induced hypercholesterolemia on the regulation of blood pressure by kidney, male albino rats were used in this study. 19 rats in the control group were fed with normal rat food and tap water for 8 weeks while the animals in the second group received a diet containing 2% of cholesterol and 0.2% of taurocholate during the same period.

At the end of the feeding period, dietary hypercholesterolemia was assessed by increased plasma and liver cholesterol as well as red blood cell membrane cholesterol. However, feeding with a diet rich in cholesterol for 8 weeks did not cause significant alteration in the cholesterol content of kidney cortex and medulla. Unaltered cholesterol content of kidney was associated with unchanged kidney functions. Neither GFR and Na excretion nor plasma electrolytes were changed significantly from control values. Prostaglandin E2 levels of cortex and medulla were also remained unaltered in hypercholesterolemic rats.

In order to obtain a 40% and 60% of decrease in blood pressure, half of animals in both groups were subjected to 6 ml/kg body weight and the other halves subjected to 12 ml/kg body weight of bleeding for one minute respectively and the normalisation trend of blood pressure was recorded for 20 min. Before and 20 minutes after hemorrhage radioimmunoassayable blood renin activity in all animals was measured. Renin response of kidney to 40% decline in blood pressure induced by 6 ml/kg body weight of bleeding was found to be similar in normal and hypercholesterolemic animals but the correction of reduced blood pressure significantly delayed during posthemorrhage 13 to 20 min and at the 20th min the blood pressure was obviously lower in rats fed cholesterol rich diet than that of controls. The response of kidney to 60% decrease in blood pressure was similar to that of rats bled 6 ml/kg body weight.

As a conclusion our results showed that dietary hypercholesterolemia produced by a diet containing 2% of cholesterol and 0.2% taurocholate did not affect on cholesterol content of either cortex or medulla of kidney. Unaltered cholesterol accumulation was associated with undisturbed kidney functions as well as PGE2 levels. Despite similar renin response to hemorrhage. Significant delay in normalisation trend of blood pressure suggested that kidneys are resistance against increased plasma cholesterol but either the response of smooth muscle cells of vasculatur Angiotensin II or the conversion of Angiotensin I to II were affected in hypercholesterolemic animals.

KAYNAKLAR

1. Ağar A , Öner G., Şermet A., Yargıçoğlu P. Hiperlipideminin ağrı-basınç-ısı duyusu ile motor ileti üzerine etkisi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 14:150-153, 1990.
2. Anand-Srivastava MB. Angiotensin II receptors negatively coupled to adenylate cyclase in rat aorta. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 117:420-428, 1983.
3. Anderson WP., Bartley PJ., Casley DJ., Selig SE. Comparison of aspirin and indomethacin pre-treatments on the responses to reduced renal artery pressure in conscious dogs. *J. Physiol. Lond.* 336: 101-112, 1983.
4. Antonipillai I., Horton R. Role of extra- and intracellular calcium and calmodulin in renin release from rat kidney. *Endocrinology*. 117: 601-606, 1985.
5. Atlas SA., Volpe M., Sosa RE., Laragh JH., Camargo MJ., Maack T. Effects of atrial natriuretic factor on blood pressure and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Fed. Proc.* 45:2115-2121, 1986.
6. Awazu M., Ichikawa I. Biological significance of atrial natriuretic peptide in the kidney. *Nephron*. 63: 1-14, 1993.
7. Bank N. Renal hemodynamic consequences of hyperlipidemia. *Miner. Electrolyte Metab.* 19(3): 165-172, 1993.
8. Barajas L., Powers K., Carretero O., Scicli AG., Inagami T. Immunocytochemical localization of renin and kallikrein in the rat renal cortex. *Kidney Int.* 29:965-970, 1986.
9. Bnaa KH., Thelle DS. Association between blood pressure and serum lipids in a population. The Troms Study. *Circulation* 83: 1305-1314, 1991.

10. Bonvalet JP , Pradelles P., Farman N. Segmental synthesis and actions of prostaglandins along the nephron. *Am. J. Physiol.* 254: F377-F387, 1987.
11. Bruneval P., Hinglais N., Alhenc-Gelas F., Tricottet V., Corvol P., Menard J., Camilleri JP., Bariety J. Angiotensin I converting enzyme in human intestine and kidney. Ultrastructural immunohistochemical localization. *Histochemistry* 85: 73-80, 1986
12. Buhrle CP., Rosivall L , Taugner R. Intrarenal generation of angiotensin II evaluated by an electrophysiological technique. *Am. J. Physiol.* 252: F635-F644, 1987.
13. Burnham CE , Hawelu-Johnson CL., Frank BM., Lynch KR. Molecular cloning of rat renin cDNA and its gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84:5605-5609, 1987.
14. Campbell DJ. Circulating and tissue angiotensin systems. *J. Clin. Invest.* 79: 1-6. 1987.
15. Campbell DJ. Tissue renin-angiotensin systems: sites of angiotensin formation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 10(Suppl 7P): S1-S8, 1987.
16. Campbell DJ., Bouhnik J., Menard J., Corvdi P. Identity of angiotensinogen precursore of rat brain and liver. *Nature* 308(5955): 206-208, 1984.
17. Campbell DJ., Habener JF. Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. *J. Clin. Invest.* 78:31-39, 1986.
18. Campbell DJ., Habener JF. Cellular localization of angiotensinogen gene expression in brown adipose tissue and mesentery: quantification of messenger ribonucleic acid abundance using hybridization in situ. *Endocrinology* 121(5):1616-1626, 1987.
19. Carlsson S., Skarphedinsson JO., Delle M., Hoffman P., Thoren P. Reflex changes in post- and preganglionic sympathetic adrenal nerve activity and postganglionic sympathetic renal nerve activity upon arterial baroreceptor activation and during severe haemorrhage in the rat. *Acta Physiol. Scand.* 144: 317-323, 1992.
20. Cassis LA., Lynch KR , Peach MJ. Localization of angiotensinogen messenger RNA in rat aorta. *Circ. Res* 62: 1259-1262, 1988.

21. Castelli WP., Anderson K. A population at risk: prevalence of high cholesterol levels in hypertensive patients in the Framingham study *Am J. Med.* 80:23-32, 1986.
22. Catt KJ., Mendelsohn FA., Millan MA., Aguilera G. The role of angiotensin II receptors in cardiovascular regulation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 6(Suppl 4P): S575-S586, 1984.
23. Cazana FJL., Puyol MR., Perez-Caballero J., Jimenez AJ., Duarte AM. Effects of dietary hyperlipidemia-hypercholesterolemia on rat erythrocytes. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 60: 392-397, 1989.
24. Churchill PC. Effect of D-600 on inhibition of in vitro renin release in the rat by high extracellular potassium and angiotensin II. *J. Physiol. Lond.* 304P: 449-458, 1980.
25. Churchill PC. Second messengers in renin secretion. *Am. J. Physiol.* 249 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 18): F175-F184, 1985.
26. Cockrell CS., Ellis EF. Simple single-step high-performance liquid chromatographic method for the separation of cyclooxygenase and lipoxygenase enzyme metabolites of arachidonic acid. *J. Chromatography.* 308: 316-321, 1984.
27. Coghlan JP., Fei DT., Scoggins BA., Tregear GW. Angiotensin production and metabolism in sheep. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* Suppl 7P: 21-29, 1982.
28. Conrad KP., Brinck-Johnsen T., Gellai M., Valtin H. Renal autoregulation in chronically catheterized conscious rats. *Am. J. Physiol.* 247:F229-F233, 1984.
29. Cooper RA. Influence of increased membrane cholesterol on membrane fluidity and cell function in human red blood cells. *J. Supramol. Struct.* 8(4): 413-430, 1978.
30. Dodge JT., Mitchell C., Hanahan DJ. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 100: 119-130, 1963.
31. Ehmke H., Perrson PB, Hackenthal E. Schweer H, Seyberth HW, Kirchheim HR. Is arterial pressure a determinant of renal prostaglandin release? *Am. J. Physiol.* 264: 33, R402-R408, 1993.

32. Ercan ZS., Öner G., Türker RK., Bor N. Zinc deficiency and lung converting enzyme activity in rats *Separatum Experientia* 35(215): 215-216, 1979.
33. Farhi ER., Cant JR., Barger AC. Alteration of renal baroreceptor by salt intake in control of plasma renin activity in conscious dogs. *Am. J. Physiol.* 245: F119-F122, 1983.
34. Farooqui AA., Horrocks LA. Exidatory amino acid receptors, neural membrane phospholipid metabolism and neurological disorders. *Brain Research Rev.* 16: 171-179, 1991.
35. Field LJ., McGowan RA., Dickinson DP., Gross KW. Tissue and gene specificity of mouse renin expression. *Hypertension* 6(4): 597-603, 1984.
36. Forslund T., Fyhrquist F., Gronhagen-Riska C., Tikkanen I. Induction of angiotensin-converting enzyme with ACE inhibitory compound MK-421 in rat lung. *Eur. J. Pharmacol.* 80:121-125, 1982.
37. Franco-Saenz R., Suzuki S., Tan SY., Mulrow PJ. Prostaglandin stimulation of renin release; independence of beta-adrenergic activity and possible mechanism of action. *Endocrinology* 106: 1400-1404, 1980.
38. Fray JC., Lush DJ., Share DS., Valentine AN. Possible role of calmodulin in renin secretion from isolated rat kidneys and renal cells; studies with trifluoperazine. *J. Physiol Lond.* 343: 447-454, 1983.
39. Freeman RH., Davis JO., Dietz JR., Villarreal D., Seymour AA., Echtenkamp SF. Renal prostaglandins and the control of renin release *Hypertension* 4:106-112, 1982.
40. Ganong WF. Other endocrine organs:in Review of medical physiology. Appleton and Lange, pp 426-436, 1991.
41. Ganten D., Hermann K., Unger T., Lang RE. The tissue renin-angiotensin systems: Focus on brain angiotensin, adrenal gland and arterial wall. *Clin. Exp. Hypertens* 5:1099-1118, 1983.
42. Gilligan DM., Guetta V., Panza AJ., Garcia CE., Quyyumi AA., Cannon RO. Selective loss of microvasculer endothelial function in human hypercholesterolemia. *Circulation* 90:35-41, 1994.

43. Gomez RA., Lynch KR., Chevalier RL., Everett AD., Johns DW., Wilfong N., Peach MJ., Carey RM. Renin and angiotensinogen gene expression and intrarenal renin distribution during ACE inhibition. *Am. J. Physiol.* 254: F900-F906, 1988
44. Gordon LM., Sauerheber RD., Esgate JA. Spin label studies on rat liver and heart plasma membranes: effects of temperature, calcium and lanthanum on membrane fluidity. *J. Supramol. Struct* 9:299-326, 1978.
45. Gross R., Hackenberg HM., Hackenthal E., Kirchheim H. Interaction between perfusion pressure and sympathetic nerves in renin release by carotid baroreflex in conscious dogs. *J. Physiol. Lond.* 313P: 237-250, 1981.
46. Gröne HJ., Walli A., Gröne E., Niedmann P., Thiery J., Seidel D., Helmchen U. Induction of glomerulosclerosis by dietary lipids: a functional and morphologic study in the rat. *Lab. Invest.* 60 (3): 433-446, 1989.
47. Guyton AC. Arterial pressure regulation; in Textbook of medical physiology. W. B. Saunders Company, pp 244-272, 1986.
48. Hackenthal E., Aktories K., Jakobs KH. Mode of inhibition of renin release by angiotensin II. *J. Hypertens. Suppl* 3P: S263-S265, 1985.
49. Hackenthal E., Aktories K., Jakobs KH. Pertussis toxin attenuates angiotensin II-induced vasoconstriction and inhibition of renin release. *Mol. Cell Endocrinol.* 42: 113-117, 1985.
50. Hackenthal E., Paul M., Ganten D., Taugner R. Morphology, physiology, and molecular biology of renin secretion. *Physiol. Reviews* 70 (4): 1067- 1116, 1990.
51. Hackenthal E., Schwertschlag U., Taugner R. Cellular mechanisms of renin release. *Clin. Exp. Hypertens. A.* 5:975-993, 1983.
52. Hardman JA., Hort YJ., Catanzaro DF., Tellam JT., Baxter JD., Morris BJ., Shine J. Primary structure of the human renin gene. *DNA* 3(6):457-468, 1984.
53. Hattori M., Yamaguchi Y., Kawaguchi H., Ito K. Characteristic glomerular lesions in the ExHC rat: A unique model for lipid-induced glomerular injury. *Nephron.* 63: 314-322, 1993.

54. Heller FR. Cholesterol esterifying capacity of various organs in cholesterol fed guinea pigs. *Lipids*. 18: 18-24, 1983.
55. Hellman W., Suzuki F., Ohkubo H., Nakanishi S., Ludwig G., Ganten D. Angiotensinogen gene expression in extrahepatic rat tissues: Application of a solution hybridization assay. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 338: 327-331, 1988.
56. Herrmann HC., Dzau VJ. The feedback regulation of angiotensinogen production by components of the renin-angiotensin system. *Circ. Res.* 52:328-334, 1983.
57. Herrmann HC., Morris BJ., Reid IA. Effect of angiotensin II and sodium depletion on angiotensinogen production. *Am. J. Physiol.* 238(2): E145-E149, 1980.
58. Hobart PM., Fogliano M., O'Connor BA., Schaefer IM., Chirgwin JM. Human renin gene: structure and sequence analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:5026-5030, 1984.
59. Hodsman GP., Sumithran E., Harrison RW., Johnston CI. Cardiac hypertrophy and salt status in chronic myocardial infarction in the rat: effects of enalapril vs salt restriction. *J. Cardiocasc. Pharmacol.* 12: 467-472, 1988.
60. Imagawa J., Miyauchi T., Satoh S. Participation of prostaglandin and adrenergic nervous system in renin release induced by changes in renal arterial pressure in rats. *Renal Physiol.* 8:140-149, 1985.
61. Imai T., Miyazaki H., Hirose S., Hori H., Hayashi T., Kageyama R., Ohkubo H., Nakanishi S., Murakami K. Cloning and sequence analysis of cDNA for human renin precursor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 80:7405-7409, 1983.
62. Ingelfinger JR., Pratt RE., Ellison K., Dzau VJ. Sodium regulation of angiotensinogen mRNA expression in rat kidney cortex and medulla. *J. Clin. Invest.* 78:1311-1315, 1986.
63. Jackson B., Cubela R., Johnston CI. Angiotensin converting enzyme (ACE); characterization by ¹²⁵I-MK351A binding studies of plasma and tissue ACE during variation of salt status in the rat. *J. Hypertens.* 4(6): 759-765, 1986.

64. Jackson EK, Gerkens JF, Brash AR, Branch RA. Acute renal artery constriction increases renal prostaglandin I₂ biosynthesis and renin release in the conscious dog. *Pharmacol. Exp. Ther.* 222: 410-413, 1982.
65. Jin M, Wilhelm MJ, Lang RE, Unger T, Lindpaintner K, Ganten D. Endogenous tissue renin-angiotensin systems. From molecular biology to therapy. *Am. J. Med.* 84(3A): 28-36, 1988.
66. Johns EJ. Role of the renal nerves in modulating renin release during pressure reduction at the feline kidney. *Clin. Sci.* 69: 185-195, 1985.
67. Johnston C.I. Biochemistry and pharmacology of the renin-angiotensin system. *Drugs* 39 (Suppl 1): 21-31, 1990.
68. Johnston CI, Fabris B, Jandeleit K. Intrarenal renin-angiotensin system in renal physiology and pathophysiology. *Kidney Int.* 44(Suppl 42):S59-S63, 1993.
69. Julius S, Jamerson K, Mejia A, Krause L, Schork N, Jones K. The association of borderline hypertension with target organ changes and higher coronary risk: Tecumseh blood pressure study. *JAMA* 264: 354-358, 1990.
70. Kageyama R, Ohkubo H, Nakanishi S. Induction of rat liver angiotensinogen mRNA following acute inflammation. *Biochem. Biophys. Res Commun.* 129(3): 826-832, 1985.
71. Kalen A, Appelkvist EL, Dallner G. Age-related changes in the lipid compositions of rat and human tissues. *Lipids* 24: 579-584, 1989.
72. Kamanna VS, Saied SI, Evans-Hexdall L, Kirschenbaum MA. Cholesterol esterase in preglomerular microvessels from normal and cholesterol-fed rabbits. *Am. J. Physiol.* 261: F163- F168, 1991.
73. Kannel WB. New perspectives on cardiovascular risk factors. *Am. Heart J.* 114-119, 1987.
74. Kasiske BL, O'Donnell MP, Keane WF. Pharmacologic treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in the rat 5/6 nephrectomy model of chronic renal failure. *Circ. Res.* 62: 367-374, 1988.
75. Keane WF, Kasiske BL, O'Donnell MP, Kim Y. Hypertension, hyperlipidemia, and renal damage. *Am. J. Kid. Disease.* 21(Suppl 2): 43-50, 1993.

76. Kircheim HR., Finke R., Hackenthal E., Lowe W., Persson P. Baroreflex sympathetic activation increases threshold pressure for the pressure-dependent renin release in conscious dogs. *Pflugers Arch.* 405:127-135, 1985.
77. Klett C., Hackenthal E. Induction of angiotensinogen synthesis and secretion by angiotensin II. *Clin Exp Hypertens A.* 9:2027-2047, 1987.
78. Kopp U., DiBona GF. Interaction of renal beta 1-Adrenoceptors and prostaglandins in reflex renin release. *Am. J. Physiol.* 244:F418-F424, 1983.
79. Kotchen TA., Krzyzaniak KE., Anderson JE., Ernst CB., Galla JH., Luke RG. Inhibition of renin secretion by HCl is related to chloride in both dog and rat. *Am. J. Physiol.* 239:F44-F49, 1980.
80. Laiken ND., Fanestil DD. Body fluids and renal function; in West JB (ed): *Best and Taylor's Physiological Basis of Medical Practice* Baltimore, Williams and Wilkins, pp 406-515, 1990.
81. Lenaz G. Lipid fluidity and membrane protein dynamics. *Bioscience Reports* 7(11): 823-837, 1987.
82. Lever AF., Lyall F., Morton JJ., Folkow B. Angiotensin II, vascular structure and blood pressure. *Kidney Int.* 41(Suppl37): S51-S55, 1992.
83. Lindpaintner K., Jin M., Wilhelm MJ., Suzuki F., Linz W., Schoelkens BA., Ganten D. Intracardiac generation of angiotensin and its physiologic role. *Circulation.* 77: 118-123, 1988.
84. Lloyd CJ., Cary DA., Mendelsohn FA. Angiotensin converting enzyme induction by cyclic AMP and analogues in cultured endothelial cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 52: 219-225, 1987.
85. Lowry OH., Rosenbrough NJ., Far AL., Randell RJ. Protein measurement with folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951.
86. Matsamura Y., Miyawaki N., Sasaki Y., Morimoto S. Inhibitory effects of norepinephrine, methoxamine and phenylephrine on renin release from rat kidney cortical slices. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 233: 782-787, 1985.

87. McMurchie EJ., Patten GS., McLennan PL., Charnock JS., Nestel PJ. Influence of dietary lipids supplementation on cardiac β adrenergic receptor adenylate cyclase activity in the marmoset monkey. *Biochem. Biophys. Acta.* 937:347-358, 1988.
88. Mendelsohn FA., Lloyd CJ., Kachel C., Funder JW. Glucocorticoid induction of angiotensin converting enzyme production from bovine endothelial cells and rat lung in vivo. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol* Suppl 7P: 57-62, 1982.
89. Miyazaki H., Fukamizu A., Hirose S., Hayashi T., Hori H., Ohkubo H., Nakanishi S., Murakami K. Structure of the human renin gene. *Proc. Natl. acad Sci.* 81: 5999-6003, 1984.
90. Mullins JJ., Burt DW., Windass JD., McTurc P., George H., Brammar WC. Molecular cloning of two distinct renin genes from the DBA/2 mouse. *EMBO J.* 1:1461-1466, 1982.
91. Myers BM., Prendergast FG., Holman R., Kuntz SM., Larusso NF. Alterations in hepatocyte lysosomes in experimental hepatic copper overload in rats. *Gastroenterology.* 105:1814-1823, 1993.
92. Navar LG., Rosivall L. Contribution of the renin-angiotensin system to the control of intrarenal hemodynamics. *Kidney Int.* 25: 857-868, 1984.
93. Okamoto H., Hatta A., Itoh N., Ohashi y., Arakawa K., Nakanishi S. Acute phase responses of plasma angiotensinogen and T-kininogen in rats. *Biochem. Pharmacol.* 36(18): 3069-3073, 1987.
94. Oliver JA., Sciacca RR. Local generation of angiotensin II as a mechanism of regulation of peripheral vascular tone in the rat. *J. Clin. Invest.* 74: 1247-1251, 1984.
95. Oliver JR., Korner PI., Woods RL., Zhu JL. Reflex release of vasopressin and renin in hemorrhage by autonomic blockade. *Am. J. Physiol.* 258(27): H221-H228, 1990.
96. Öner G., Ağar A., Şermet A., Tanalp R. Hiperkolesteroleminin beyin değişik bölgelerindeki $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase aktivitesine etkisi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Araştırma Dergisi.* 6(6): 441-444, 1988.

97. Öner G., Açar A., Yargıçoğlu P. Hiperkolesteroleminin beyin elektriksel aktivitesine etkisi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Araştırma Dergisi* 8(1): 41-46, 1989.
98. Öner G., İzgüt N. The effect of hypercholesterolemia on gastric secretion. *J. Islamic Acad. Sci.* 1:161, 1988.
99. Öner G., İzgüt N., Şermet A. Hiperkolesteroleminin gastrik mukozal bariyere etkisi. *T. J. Research Med. Sci.* 7(2): 149-152, 1989.
100. Öner G., Şentürk ÜK. Reversibility of manganese-induced learning defect in rats. *Fd. Chem. Toxic.* 33: 559-563, 1995.
101. Pfeffer JM., Pfeffer MA., Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy in the infarcted left ventricle in the rat. *Circ. Res.* 57: 84-94, 1985.
102. Radin NS. Extraction of tissue lipids with a solvent of low toxicity. *Methods in Enzymology* 72: 5-7, 1981.
103. Richoux JP., Cordonnier JL., Bouhnik J., Clauser E., Corvol P., Menard J., Grignon G. Immunocytochemical localization of angiotensinogen in rat liver and kidney. *Cell Tissue Res.* 233: 439-451, 1983.
104. Rose HG., Oklander M. Improved procedure for the extraction of lipids from human erythrocytes. *J. Lipid Res.* 6: 428-431, 1965.
105. Rubattu E., Volpe M., Enea I., Russo R., Romano M., Trimarco B. Influence of hypercholesterolemia on adrenal steroid metabolism and electrolyte balance in spontaneously hypertensive rats. *Endocrinology* 133: 2015-2021, 1993.
106. Rudman D. Kidney senescence: A model for aging. *Nutr. Rev.* 46(6):209-213, 1988.
107. Sakaguchi K., Chai SY., Jackson B., Johnston CI., Mendelsohn FA. Inhibition of tissue angiotensin converting enzyme. Quantitation by autoradiography. *Hypertension* 11:230-238, 1988.
108. Sasaki Y., Matsamura Y., Shinyama H., Kageyama M., Morimoto S. The different effects of exogenous and neuronally released norepinephrine on renin release in rat kidney cortical slices. *Eur. J. Pharmacol.* 125:457-460, 1986.

109. Schlondorff D. Cellular mechanisms of lipid injury in the glomerulus. *Am. J. Kid. Disease* 22(1): 72-82, 1993.
110. Schwertschlag U., Hackenthal E. Trifluoperazine antagonizes inhibition of renin release by angiotensin II. *Clin. Exp. Pharmacol Physiol* 10:605-608, 1983.
111. Schwertschlag U., Stahl T., Hackenthal E. A comparison of the effects of prostacyclin and 6-keto-prostaglandin E1 on renin release in the isolated rat and rabbit kidney. *Prostaglandins* 23:129-138, 1982
112. Sernia C., Reid IA. Stimulation of angiotensinogen production: a dose-related effect of angiotensin II in the conscious dog. *Am J. Physiol* 239(6):E442-E446, 1980.
113. Skidgel RA., Engelbrecht S., Johnson AR., Erdos EG. Hydrolysis of substance P and neurotensin by converting enzyme and neutral endopeptidase. *Peptides* 5: 769-776, 1984.
114. Skøtt O., Briggs JP. Direct demonstration of macula densa-mediated renin secretion. *Science Wash. DC* 237: 1618-1620, 1987.
115. Soubrier F., Alhenc-Gelas F., Hubert C., Allegrini J., John M., Tregear G., Corvol P. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:9386-9390, 1988.
116. Sraer J., Ardaillou N., Sraer JD., Ardaillou R. In vitro prostaglandin synthesis by human glomeruli and papillae. *Prostaglandins* 23:855-864, 1982.
117. Steinberg D., Parthasarathy S., Carew TE., Khoo JC., Witztum JL. Beyond cholesterol modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *Engl. J. Med* 320: 915-924, 1989.
118. Stragliotto E., Camera M., Postiglione A., Sirtori M., Di-Minno G., Tremoli E. Functionally abnormal monocytes in hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb* 13(6): 944-950, 1993.
119. Stubbs CD., Smith AD. The modification on mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Biochem. Biophys. Acta* 779: 89-137, 1984.

120. Stuzmann M., Radziwill R., Komischke K., Klett C., Hackenthal E. Hormonal and pharmacological alteration of angiotensinogen secretion from rat hepatocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 886:48-56, 1986.
121. Şentürk ÜK, Öner G. The effect of manganese-induced hypercholesterolemia on learning in rats. *Biol. Trace Elem.* (Baskıda)
122. Taugner R., Ganten D. The localization of converting enzyme in kidney vessels of the rat. *Histochemistry*. 75: 191-201, 1982.
123. Taugner R., Hackenthal E., Inagami T., Nobiling R., Poulsen K. Vascular and tubular renin in the kidney of mice. *Histochemistry*. 75: 473-484, 1982.
124. Taugner R., Hackenthal E., Nobiling R., Harlacher M., Reb G. The distribution of renin in the different segments of the renal arterial tree: immunocytochemical investigation in the mouse kidney. *Histochemistry*. 73: 75-88, 1981.
125. Thalhammer T., Kaschnitz R., Mittermayer K., Haddad P., Graf J. Organic solvents increase membrane fluidity and affect bile flow and K⁺ transport in rat liver. *Biochem. Pharmacol.* 46:1207-1215, 1993.
126. Tolins JP., Stone BG., Raij L. Interactions of hypercholesterolemia and hypertension in initiation of glomerular injury. *Kidney Int* 41: 1254-1261, 1992
127. Wang BC, Sundet WD., Hakumaki MOK, Goetz KL. Vasopressin and renin responses to hemorrhage in conscious, cardiac-denervated dogs. *Am. J. Physiol.* 245: H399-H405, 1983.
128. Wang T., Falardeu P., Powell WS. Synthesis of prostaglandins and thromboxane B₂ by cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler. Thromb.* 11(3): 501-508, 1991.
129. Welch WJ., Ott CE., Lorenz JN., Kotchen TA. Effects of chlorpropamide on loop of Henle function and plasma renin. *Kidney Int.* 30:712-716, 1986.
130. Wong T., Morgan TO., Alcorn D., Ryan GB. Effect of sodium intake and sodium delivery to the macula densa on renal renin content and juxtaglomerular apparatus morphology. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 13: 267-270, 1986.

131. Woodcock EA , Johnston CI. Inhibition of adenylate cyclase in rat adrenal glomerulosa cells by angiotensin II. *Endocrinology*. 115: 337-341, 1984.
132. Yargıçoğlu P., Ağar A , Yurttaş O. , Öner G. The effect of hypercholesterolemia on SEPs recorded from rats. *Intern. J. Neuroscience*. 61: 93-99, 1991.
133. Yeagle PL. Cholesterol modulation of Na⁺-K⁺ ATPase ATP hydrolyzing activity in the human erythrocyte. *Biochem. Biophys. Acta*. 727: 30-44, 1983.