

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Anatomi Anabilim Dalı

**L-NAME İLE HİPERTANSİYON OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA KALP VE BÖBREK DOKUSUNDAKİ APELİN
EKSPRESYONU**

Rahime ŞEKERCİ

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2013

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Anatomi Anabilim Dalı

L-NAME İLE HİPERTANSİYON OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA KALP VE BÖBREK DOKUSUNDAKİ APELİN
EKSPRESYONU

Rahime ŞEKERCİ

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Nigar KELEŞ

Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
tarafından desteklenmiştir. (Proje no:2011.02.0122.007)

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”

Antalya, 2013

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 21/06/2013

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Nigar KELEŞ
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



Üye : Prof..Dr. Nurettin OĞUZ
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



Üye : Prof..Dr. Muzaffer SİNDEL
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



Üye : Prof.Dr. İsmail ÜSTÜNEL
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



Üye : Prof.Dr. Aysun UZ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../... tarih ve .../... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof..Dr. İsmail ÜSTÜNEL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Hipertansiyon, sistemik arteriyel kan basıncının kalıcı olarak yüksek değerlerde seyretmesi ile kendini gösteren ve ciddi komplikasyonlara yol açan önemli bir sağlık problemidir. Hipertansiyon koroner kalp hastalıklarına, kalp yetmezliğine, böbrek hasarına, serebrovasküler hastalıklara zemin hazırlamaktadır. Etik kaygılar nedeniyle insanlarda hipertansiyonun mekanizmasını, yan etkilerini ve tedavisini ortaya koyan çok detaylı çalışmalar yapılamamaktadır. Bu sebeple hipertansiyon mekanizmasıyla ilgili organa ait spesifik çalışmalar deney hayvanlarında yapılmaktadır. Hipertansiyonun zarar vermiş olduğu en önemli organlardan olan kalp ve böbrek dokusu çalışmamızın spesifik organlarını oluşturmuştur.

Deneysel çalışmamızda toplam 35 adet (hipertansif grubu: 20, kontrol grubu: 15) *Rattus norvegicus* Wistar albino türü sıçan kullanılmıştır. Hipertansiyon modelimizi elde etmek amacıyla deney hayvanlarımıza içme suyu ile birlikte altı hafta boyunca L-NAME verildi. Altı hafta sonunda deneysel işlemler sonlandırıldı. Hipertansif ve kontrol grubuna ait kalp ve böbrek dokuları elde edildi. İmmünohistokimyasal ve Western Blot protokolleri ile apelin ve apelin reseptörünün (APJ) ekspresyonu gösterildi.

Hipertansif gruba ait kalplerin atriumlarında geniş boşluklar, septum interventrikülarde ve miyokardiyum dokusunda parçalanmalar ayrıca koroner arter çapında da artış gözlemlenmiştir. Genel olarak hipertansif gruba ait böbrek dokularının korteks renalisindeki yapılarda daralma, medulla renalisindeki yapılarda ise genişlemeler görülmüştür.

Sonuç olarak hipertansif olgularda kalp dokusundaki Apelin ve APJ reseptörünün ekspresyonunda artış, böbrek dokusundaki Apelin ve APJ reseptörünün ekspresyonunda ise azalma saptanmıştır. Bulgularımızın hipertansif ve apelin ile ilgili yapılacak deneysel veya klinik çalışmalara katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Hipertansiyon, L-NAME, apelin, kalp, böbrek

ABSTRACT

Hypertension is the important health problem that comes out by the persistant high value of systemic blood pressure and leads to serious complications. Hypertension lays the groundwork for coronary heart diseases, cardiac insufficiency, kidney damage and the cerebrovascular diseases. Because of the ethical care, the studies which produce the mechanism of hypertension, the side effect of hypertension and the treatment of the hypertension can not be done in the human subject. Therefore for this reason the specific studies of the related organ in mechanism of hypertension are done in rats. The tissue of the heart and the kidney are one of the important organs that the hypertension leads to damage were composed to our study's specific organs.

In our experimental study were used 35 (hypertensive group: 20, control group: 15) *Rattus norvegicus* Wistar albino rats. For the purpose of to get the hypertensive model, the drinking water with L-NAME have been given for 6 weeks. At the end of the 6 weeks all the test was ended. The tissues of the heart and the kidney were obtained in the both groups. Apelin ve expression of the apelin reseptor (APJ) was shown the protocols of the immunohistochemically and Western Blot.

Wide hole in the atrium, fragmentation in the tissue of the septum interventriculare and the myocardium, beyond the rising of the diameter of the coronary artery was found in the heart tissue of the hypertensive subjects. In generally, in the kidney tissues of the hypertensive subjects, we found that the cortex renalis was narrowing, medulla renalis was wide.

Consequently, in the hypertensive group, increasing of the apelin ve expression of the apelin reseptor (APJ) was determined in the heart tissue. In contrastly, in kidney tissue, decreasing of the apelin ve expression of the apelin reseptor (APJ) was determined. We thought that our findings could be useful for the experimental or clinic studies of the hypertension and the apelin.

Key words: Hypertension, L-NAME, apelin, heart, kidney

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyuncaengin bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, çalışmamın her aşamasında bana sabırla yol gösteren, bana her zaman yanımda olduğunu hissettiren ve destekleyen, bana ve bu çalışmaya değerli katkılarda bulunan sevgili danışman hocam **Doç. Dr. Nigar KELEŞ**'e, aynı süre içerisinde desteklerini benden esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini bana aktaran Anatomi Anabilim Dalı'mızdaki tüm değerli öğretim üyelerimize teşekkür ederim. Bu çalışmamın gerçekleşmesindeki katkı ve yardımlarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı **Prof. Dr. İsmail Üstünel**'e, çalışmamın deneysel kısmında desteklerini benden esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı **Uzm.Dr.Nuray ACAR**'a ve araştırma görevlisi **Dr. Filiz Tepeköy**'e, ayrıca tezimin tüm aşamalarında verdikleri destek, yardım ve gösterdikleri dostluktan ötürü Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak hayatımın her aşamasında olduğu gibi, yine bu tez süresince de maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, yaşamımın bana verdiği en değerli hediye olan **canım aileme** bütün kalbimle sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	Sayfa iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
2. 1. Hipertansiyon	3
2. 2. Tanım ve Patogenezi	4
2. 2.1. Kalp debisi artışı	4
2. 2. 2. Periferik direnç artışı	4
2. 2. 3. Sıvı hacmi ve kan hacmi artışı	4
2. 2. 4 Stres ve aşırı sempatik aktivite	4
2. 2. 5. Renin-anjiotensin sisteminin katkısı	5
2. 2. 6. Endotelyal disfonksiyon	5
2. 3. Hipertansiyonun Epidemiyolojisi	5
2. 4. Hipertansiyonun Etiyolojisi	6
2. 4.1. Hipertansiyonun Etiyolojisine Göre Sınıflandırılması	6
2.4.1.1. Primer (Esansiyel) Hipertansiyon	6
2.4.1.2. Sekonder Hipertansiyon	6
2.4.2. Hipertansiyonun Hedef Organ Hasarına Göre Sınıflandırılması	7

2. 5.	Hipertansiyonun Komplikasyonları	7
2. 5. 1.	Kardiyak Komplikasyonlar	7
2. 5. 1.1.	Sol Ventrikül Hipertrofisi ve Kalp Yetmezliği	7
2. 5. 1.2.	Anjina ve Miyokard İnfarktüsü	8
2. 5. 1.3.	Koroner arter hastalığı	8
2. 5. 2.	Serebrovasküler Komplikasyonlar	8
2. 5. 2.1.	İnme ve Geçici İskemik Atak	8
2. 5. 2.2.	Demans	8
2. 5. 3.	Renal Komplikasyonlar	9
2. 5. 4.	Vasküler Komplikasyonlar	9
2. 5. 5.	Gözle İlişkili Komplikasyonlar	9
2. 6.	Deneysel Hipertansiyon Modelleri	9
2. 6. 1.	Spontan Hipertansif Sıçanlar	10
2. 6. 2.	DOCA-Tuz Hipertansiyon Modeli	10
2. 6. 3.	Goldblatt Hipertansiyon Modeli	10
2. 6. 4.	Dahi-Tuz Hipertansiyon Modeli	10
2. 6. 5.	NOS Blokajıyla Oluşan Hipertansiyon Modeli	10
2. 7.	Deney Hayvanlarında Kan Basıncının Ölçümü ve Takibi	11
2. 7. 1.	Direkt Ölçüm Yöntemleri	11
2. 7. 2.	İndirekt Ölçüm Yöntemleri (“Kuyruk-manşon [Tail-cuff]” Yöntemi)	12
2. 8.	Nitrik Oksit	12
2. 8. 1.	Nitrik Oksit ve Hipertansiyon	13
2. 9.	Apelin	14
2. 9. 1.	Tarihçe, Yağ Dokusu ve Apelin	14
2. 9. 2.	Apelin Reseptörü	15
2. 9. 3.	Apelinin Fizyolojik Etkileri	15
2. 9. 4.	Apelinin Kardiyovasküler Etkileri	16
2. 9. 5.	Apelinin Kan Basıncı ve Vasküler Tonus Üzerine Etkisi	17
2. 9. 6.	Apelin’in Diğer Etkileri	17

2. 10.	Kalbin Histolojisi	18
2. 11.	Böbreğin Histolojisi	19
2. 11.1.	Korpuskulum renis (malpigi cisimciği)	21
2. 11.2.	Tubulus proksimalis	21
2. 11.3.	Henle kulpu (tubulus intermedius)	21
2. 11.4.	Tubulus distalis	22
2. 11.5.	Toplayıcı tubuller	22
2. 12.	Hipertansiyon ve Kalp	22
2. 13.	Hipertansiyon ve Böbrek	23
MATERYAL VE METOT		24
3. 1.	Deney Hayvanları	24
3. 2	Hipertansiyonun Oluşturulması	24
3. 3	Kan Basıncı Ölçümü	24
3. 4.	Deneyin Sonlandırılması	25
3. 5.	Doku Temini ve Hazırlanması	25
3. 6.	İmmünohistokimyasal Protokol	25
3. 7.	SDS - Poliakrilamid Jel Elektrophorezi (PAGE) ve Western Blot Metodu	26
BULGULAR		
4. 1.	Vücut Ağırlığı	28
4. 2.	Kan Basıncı	28
4. 3.	Hematoksilen – Eozin Bulguları	29
4. 4.	İmmünohistokimyasal Bulgular	35
4. 4.1.	Kalpteki Apelin Ekspresyonu	35
4. 4.1.1.	Apelinin Endokardium Tabakasındaki İmmünoboyanma Sonuçları	36
4. 4.1.2.	Apelinin Miyokardium Tabakasındaki İmmünoboyanma Sonuçları	37
4. 4. 2.	Kalpteki Apelin Reseptörünün Ekspresyonu	38
4. 4. 2.1.	Apelin Reseptörünün Atriumdaki İmmünoboyanma Sonuçları	39
4. 4. 2.2.	Apelin Reseptörünün Endokardiyumdaki	40

	İmmünboyanma Sonuçları	
4. 4.2.3.	Negatif Kontrol Sonuçları	41
4. 4.3.	Böbrekteki Apelin Ekspresyonu	43
4. 4.3.1.	Apelinin Böbrek Korteksindeki İmmünboyanma Sonuçları	44
4. 4.3.2.	Apelinin Böbrek Medullasındaki İmmünboyanma Sonuçları	45
4. 4.4.	Böbrekteki Apelin Reseptörünün Ekspresyonu	46
4.4.4.1.	Apelin Reseptörünün Böbrek Korteksindeki İmmünboyanma Sonuçları	47
4.4.4.2.	Apelin Reseptörünün Böbrek Medullasındaki İmmünboyanma Sonuçları	48
4.4.4.3.	Apelin Reseptörünün Böbrek Papillasındaki İmmünboyanma Sonuçları	49
4.4.4.4.	Negatif Kontrol Sonuçları	50
4.5.	SDS-PAGE Western Blot Sonuçları	52
TARTIŞMA		54
SONUÇLAR		57
KAYNAKLAR		58
ÖZGEÇMİŞ		71

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACE	:	Anjiotensin Converting Enzim
ACTH	:	Adrenokortikotropik hormon
ACTH	:	Adrenokortikotropik hormon
ADH	:	Anti diüretik hormon
ADMA	:	Asymetric dymethyl arginine
ADP	:	Adenozin difosfat
ADP	:	Adenozin trifosfat
AEC	:	Amino etil karbozol
APJ	:	Apelin reseptörü
AT1	:	Angiotensin I
AT2	:	Angiotensin II
DD	:	Diyastolik disfonksiyon
DOCA	:	Deoxycorticosterone-Acetate
EDHF	:	Endothelium-Derived Hyperpolarising faktör
EDRF	:	Endothelium-Derived relaxing faktör
EF	:	Ejeksiyon fraksiyonu
EKO	:	Katalaz
eNOS	:	Endotelyal NOS
FBF	:	Fibroblast büyüme faktörü
GİA	:	Geçici iskemik atak
HE	:	Hematoksilen- eozin
HT	:	Hipertansiyon
iNOS	:	İndüklenebilir NOS
KAH	:	Koroner arter hastalığı
KKL	:	Kalp kası lifleri
KKY	:	Kronik kalp yetmezliği
LA	:	Sol atriyal
L-NAME	:	N-nitro-L-arginin metil ester
LVH	:	Sol ventrikül hipertrofisi
MI	:	Myokard Infarktüsü
nNOS	:	Nöronal NOS
NO	:	Nitrik oksit
NOS	:	Nitrik oksit sentetaz
PBS	:	Fosfat tamponlu tuz çözeltisinden
RAAS	:	Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi
SVH	:	Sol ventrikül hipertrofisi
TBF-β	:	Trombosit büyüme faktörü beta
TBF-β	:	Trombosit büyüme faktörü beta
TKBF	:	Trombosit kökenli büyüme faktörü
TSH	:	Troid stimülan hormon
TXA2	:	Thromboxane A2

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
2.1.	Kalp duvar yapısının şematik gösterimi	18
2.2.	Nefron ve toplayıcı borucuklar	20
4.2.	Deney gruplarındaki sistolik kan basıncı değerleri	28
4.3.1.	Kontrol ve hipertansif kalpte atrium ve septum interventrikülerinin Hematoksilen- Eozin boyanması	29
4.3.2.	Kontrol ve hipertansif kalpte koroner arterlerin Hematoksilen-Eozin boyanması	30
4.3.3.	Kontrol ve hipertansif kalpte miyokardiyumun Hematoksilen Eozin boyanması	31
4.3.4.	Kontrol ve hipertansif böbrekte korteks renalisin Hematoksilen Eozin boyanması	32
4.3.5.	Kontrol ve hipertansif böbrekte medulla renalisin Hematoksilen Eozin boyanması	33
4.3.6.	Kontrol ve hipertansif böbrekte papilla renalisin Hematoksilen Eozin boyanması	34
4.4.1.1.	Kontrol ve hipertansif kalplerde endokardiyumun apelin immünboyanması	36
4.4.1.2.	Kontrol ve hipertansif kalplerde miyokardiyumun apelin immünboyanması	37
4.4.2.1	Kontrol ve hipertansif kalplerde atriumun apelin reseptörü immunboyanması	39
4.4.2.2.	Kontrol ve hipertansif kalplerde endokardiyumun apelin reseptörü immünoboyanması	40
4.4.2.3	Kontrol ve hipertansif kalplerde miyokardiyumun apelin negatif kontrol immünboyanması	41
4.4.2.4.	Kontrol ve hipertansif kalplerde miyokardiyumun apelin reseptörü negatif kontrol immünboyanması	42
4.4.3.1.	Kontrol ve hipertansif böbreklerde korteksin apelin	44

	immünboyanması	
4.4.3.2.	Kontrol ve hipertansif böbreklerde medullanın apelin immünboyanması	45
4.4.4.1.	Kontrol ve hipertansif böbreklerde korteksin apelin reseptörü immünboyanması	47
4.4.4.2.	Kontrol ve hipertansif böbreklerde medullanın apelin reseptörü immünboyanması	48
4.4.4.3.	Kontrol ve hipertansif böbreklerde papillanın apelin reseptörü immünboyanması	49
4.4.4.4.	Kontrol ve hipertansif böbreklerde korteksin negatif kontrol immünohistokimyası	50
4.4.4.5.	Kontrol ve hipertansif böbreklerde apelin reseptörü negatif kontrol immünboyanması	51
4.5.1.	Böbrekteki Apelin Reseptörünün Ekspresyonu	52
4.5.2.	Kalpdeki Apelin Reseptörünün Ekspresyonu	53

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo		Sayfa
4.4.1.	Kontrol ve hipertansif gruplarda kalpteki atrium ve ventriküler bölgelerde apelin ekspresyon yoğunluğunun semikantitatif değerlendirilmesi	6
4.4.2.	Kontrol ve hipertansif gruplarda kalpteki atrium ve ventriküler bölgelerde apelin reseptörü (APJ) ekspresyon yoğunluğunun semikantitatif değerlendirilmesi	30
4.4.3.	Kontrol ve hipertansif gruplarda böbrekteki atrium ve ventriküler bölgelerde apelin ekspresyon yoğunluğunun semikantitatif değerlendirilmesi	41
4.4.4.	Kontrol ve hipertansif gruplarda böbrek dokularında apelin reseptörü (APJ) ekspresyon yoğunluğunun semikantitatif değerlendirilmesi	41

GİRİŞ VE AMAÇ

Hipertansiyon üzerine çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bunun nedeni etkilediği populasyon yüzdesi ve uzun vadede yol açtığı hasarlardır. Yapılan araştırmalarda hipertansiyonun mekanizmasını ve tedavisini aydınlatmak için çok farklı yaklaşımlar uygulanmaktadır. Çeşitli etik sorunlar sebebiyle hipertansiyon araştırmalarında genellikle deney hayvanları kullanılmaktadır [1,2,3].

Hipertansiyon patofizyolojisinde yer alan periferik arteriyel direncin artışı ile nitrik oksit (NO) arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir [4, 5]. Nitrik oksit sentetaz (NOS) enziminin kronik olarak inhibisyonu ile periferik arteriyel direncin artışı ve dolayısıyla sistemik hipertansiyon oluşumu saptanmıştır [5,6]. NO'nin vasküler tonus ve myokardiyal kontraktilite ile ilişkisi bilinmektedir [4,7,8,9]. Bu bakımdan, deneysel sistemik hipertansiyon modeli olarak NOS'ı inhibe eden N-nitro-L-arginin metil esterinin (L-NAME) kronik uygulanması sıçanlarda tercih edilmiş metodlar arasında yer almıştır [5,10,11].

Apelin, renal hemodinamiğin regülasyonunda, sıvı hemostazı ve hipertansiyonda görev almaktadır [12]. Apelinin miyokardiyum, kardiyak endothelyum ve büyük damarların endothelyumu, küçük damarlar ve arterlerde aktif olduğunu belirtmek gereklidir [13-15]. Apelin periferik damar direncini azaltırken koroner damarlarda vasodilatör etki yapar. Bazı preklinik ve sınırlı klinik çalışmalarda apelinin kalp yetmezliği patolojisinde önemli bir role sahip olabileceği bildirilmiştir [13,16]. Ayrıca apelinin pozitif inotropik ve lusitropik aksiyonda, kardiyak remodelling ve iskemik kalp hastalığında rolü bulunmaktadır [17,18].

Ellinor ve ark. [12] apelin seviyelerinin ayrılan atrium kasılması olan hastalarda düştüğünü göstermiştir ki bu, o peptidin serum konsantrasyonunun bu tür bir kalp ritim bozukluğu başlangıcında belirti bulunmayan bireylerde bir risk endeksi olarak kullanılabileceğini ifade eder. Apelin, atrial fibrilasyonun gelişiminde belirleyici bir marker olarak kullanılabilir.

Kardiometabolik hastalıklarda plazmada apelin'in düşük, asymmetric dimethyl arginine (ADMA) ise yüksek olduğu belirtilirken [18-20] Sönmez ve ark. [21] esansiyel hipertansiyonda plazmada apelin'in düşük, ADMA'nın ise yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Sönmez ve ark. [21] yapmış oldukları çalışmada hipertansiyonlu hastaların plazmadaki apelin seviyeleri belirlenmiştir. Projemizde ise daha spesifik olarak apelin ve APJ reseptörünün kalp ve böbrek dokusundaki ekspresyonuna bakılacaktır.

Malyszkoj ve ark. [20] kronik böbrek hastalığında apelin düzeylerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Hemodiyalize giden koroner damar hastalarında apelin seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir. Apelinin olası kardiyovasküler hastalıkların fizyo-patolojisinde bunun yanı sıra kronik böbrek yetmezliğinde de görev aldığı tahmin edilmektedir. Bu bilgilerin ışığında gelecekte apelinin, üremik

kardiyomiyopati için bir tedavi yaklaşımı olarak kullanılabileceği belirtilmektedir [14].

Apelin organizmada farklı sistemlerde ve çok yaygın olarak bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar çoğunlukla plazma düzeyindeki apelin seviyesi ile ilgilidir. Hipertansif olgularda plazmadaki apelin seviyesinin düştüğü belirtilmektedir [21] fakat bu sonuç organizma için genel sonuçtur ve organlara ait spesifik bir bilgi bulunmamaktadır.

Çalışmamızda L-NAME ile hipertansif yapılan ratlarda spesifik olarak kalp ve böbrek dokusunda apelin ve apelin reseptörünün ekspresyonu immünohistokimyasal ve Western Blot ile belirlemeyi amaçladık. Apelinin bulunduğu organ ve dokulardaki spesifik fonksiyonlarının bilinmesinin bu konuda yapılacak deneysel ve klinik çalışmalara katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

GENEL BİLGİLER

2.1.Hipertansiyon

Hipertansiyon günümüzde en önemli sağlık sorunlarından birisidir. Tüm dünyada görülen mortalitenin en sık nedenleri arasında olan kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların major risk faktörüdür [22,23]. Hipertansiyonu olan hastaların yaklaşık üçte biri hastalığının farkında değildir. ABD'de en fazla hekime başvurunun hipertansiyon tedavisiyle ilgili olduğu bildirilmektedir [23-26] .

Dünya nüfusunun 3.5 milyarının erişkin nüfusu (20 yaş üstü) temsil ettiği ve ortalama hipertansiyon prevalansının %20 olduğu kabul edilirse, tüm dünyada yaklaşık 700 milyon insanın hipertansif olduğunu söylemek mümkündür. Ülkemizde ise yaklaşık 15-18 milyon insanın hipertansif olduğu tahmin edilmektedir [27].

Literatürde de hipertansif hastaların yaklaşık 2/3'ünde kan basıncı kontrolünün sağlanamadığı belirlenmiştir [28]. Kişilerin hipertansiyon hakkındaki bilgi eksiklikleri, farkındalıklarını ve tutumlarını da etkilemekte ve bu durum hastalığın kontrolü için en önemli engeli oluşturmaktadır [29].

65 yaşın üstündekilerde, sistolik hipertansiyon veya hem sistolik hem diastolik hipertansiyon birlikteliği % 50'nin üzerindedir. Türk Kardiyoloji Derneği'nin çalışmasında tüm yaş grupları dikkate alındığında hipertansiyonun prevalansı %33.7 olarak bulunmuştur [24]. Bu yüksek prevalansa rağmen hastaların ancak %8'nin hipertansiyonunun kontrol altında olduğu görülmüştür [23].

Bu durum hastalığın asemptomatik, tedavisinin uzun süreli ve getirdiği iyilik halinin hasta tarafından bilinmemesinin sonucudur. Hipertansiyon yalnızca kan basıncı ölçümü ile teşhis edilir. Bu da düzenli kan basıncı ölçümünün neden bu kadar önemli olduğunu gösterir. Kan basıncının kontrol altına alınması, kalp hastalıkları ve inme gibi serebrovasküler hastalıklar nedeni ile olan ölümleri azaltmakta, böbrek yetmezliğinin ilerlemesini yavaşlatmakta ve hipertansiyonun daha da şiddetlenmesini önlemektedir. Hipertansiyon gelişiminde pek çok risk faktörü vardır. Hipertansiyon toplumlararası farklılıklar gösterebildiği gibi daha önemli farklılıklar aynı toplumun kendi bireyleri arasında da görülebilmektedir. Stres, obezite, elektrolit alımı (tuz), iş, alkol, aile yapısı, şehirleşme gibi çevresel faktörler bunda rol oynar. [23-26].

Hipertansiyon beyin, böbrek ve kalbin de içinde olduğu sistemlerle bir çok basınç mekanizmalarının doğrudan ya da dolaylı katkıları sonucu gelişen dinamik bir sendromdur [30]. Sistolik kan basıncı yükselirse sistolik, diastolik kan basıncı

yükselirse diyastolik hipertansiyondan söz edilir. Olguların çoğunda her iki tür kan basıncı da yükselmektedir [31]. Sistolik kan basıncı için 120 mm Hg, diyastolik kan basıncı için ise 80 mmHg alt sınır olarak belirlenmiştir. Hipertansiyon tanısı için en az iki veya daha fazla ölçümün ortalaması değerlendirilmelidir [32].

2.2. Tanım ve Patogenezi

Kan basıncı yani tansiyon, damar yatağındaki kanın akım sırasında damar duvarlarına yaptığı basınçtır. Kalp tarafından pompalanan kan miktarı ve damarların bu akıma karşı oluşturduğu dirence bağlıdır [26].

2.2.1. Kalp debisi artışı

Kan akımını sağlamak için gerekli basınç, kalbin pompalama işlevine (kalp debisine) ve arterlerin tonusuna (veya periferik dirence) bağlıdır. Kalp debisi artışının hipertansiyon gelişimine katkısı öne sürülmüştür. Genç veya sınırdaki hipertansiyonlu hastalarda kalp debisi artışı gözlenmiştir. Bu artış iki yolla olabilir. Birisi vücuttaki sıvı hacminin artması, diğeri ise kalbin kasılabilirliğinin artmasıdır [26].

2.2.2. Periferik direnç artışı

Hipertansiyon gelişiminde kan basıncını belirleyen etkenlerden biri olan periferik direnç pek çok faktörden etkilenir. Bunlardan en önemlisi damar çapıdır. Hipertansiyon gelişirken arttığı söylenen veya yerleşik hipertansiyonda artmış olan periferik damar direncinden sorumlu olan olayın, küçük direnç arterlerindeki ve arteriollerdeki çap değişimidir. Damarlardaki media tabakasının kalınlaşmasıyla artan "damar duvarı/damar iç çapı" oranı daha büyük bir duvar stresine ve intraluminal basınç artışına yol açar. Bununla birlikte esansiyel hipertansiyonun erken dönemlerinde daha büyük arterlerde de hipertrofi gözlenir. Aslında damar duvarındaki yapısal kalınlaşma şeklindeki bu yeniden yapılanma (remodeling) ve gelişen işlevsel vazokonstriksiyon hem periferik direnç artışına yol açan bir sebep hem de hipertansiyonla ortaya çıkan bir sonuç olarak da görülebilir [26,33,34].

2.2.3. Sıvı hacmi ve kan hacmi artışı

Kan hacmindeki artış, kalp debisi artışına neden olarak hipertansiyon gelişimini uyarabilir. Sıvı hacmini veya kalbin "ön yükünü" arttıran etkenlerden biri aşırı sodyum alımıdır. Aynı zamanda şişmanlıkta da total kan hacmi artar. Artan kalp debisi ile dokulara gerekenden fazla kan gider ve cevap olarak damarlar kasılarak kan akımını azaltırlar ve dengeyi sağlamaya çalışırlar. Böylece periferik direnç artar ve hızlı bir süreçle direnç damarlarında yapısal kalınlaşma sağlayarak kalıcı duvar direnci artışına yol açabilir [26,33,34].

2.2.4. Stres ve aşırı sempatik aktivite

Hipertansiyonun erken dönemlerinde ve hipertansif ebeveynli normotansif nesilde sempatik sinir aktivitesinin arttığı ve bu bireylerin çoğunda hipertansiyon geliştiği görülmüştür. Artan sempatik aktivitenin basınç artışına katkısı renin-anjiotensin sistemi ile olan etkileşimden kaynaklanabilir. Bunun yanında özellikle tekrarlayan psikojenik strese maruz kalan insanlarda, diğer insanlara göre daha

çok hipertansiyon görülür. Fakat stresin hipertansiyon gelişimindeki rolü kesin olmamakla birlikte, etkisi stresin özelliğine, birey tarafından algılanmasına ve bireyin duyarlılığına bağlıdır [26,33,34].

2.2.5. Renin-anjiotensin sisteminin katkısı

Normal ve hipertansif popülasyonlarda plazma renin seviyesi değişkendir. Plazma renin aktivitesinin hipertansiyon patogeneğinde rolü olabilecek bir etken olarak görülebilir. Hipertansiyona eğilimli ve genetik predispozisyonu olan kişilerde yüksek plazma anjiotensinojen değerleri saptanmıştır. Böbrekte renin üreten jukstaklomerüler granüler hücreler, hipertansiyonda yüksek perfüzyon basıncına maruz kaldıklarından plazma renin aktivitesinin düşük olması beklenir. Fakat çoğu hipertansiyon hastasında renin aktivitesi düşük değildir ve primer hipertansiyonlu hastaların çoğunda bu mekanizma anormal olarak aktif görülebilir. Yüksek reninli hastalarda arteriolar vazokonstriksiyondan sorumlu olan ajan anjiotensin iken düşük reninli hastalarda sıvı hacmi artışı daha önemli olabilir [26,33-35].

2.2.6. Endotelial disfonksiyon

Kan basıncının lokal kontrolünde endotel ve endotelden kaynaklanan vazoaaktif maddeler önemli role sahiptir. Bu maddelerden biri endotelindir. Hipertansiyon geliştirme riski daha büyük olan siyah ırktaki insanlarda plazma endotelin düzeyleri beyaz ırktakine göre yüksek bulunmuştur. Bazı hipertansif hastalarda ise küçük direnç arterlerindeki endotel hücrelerinde endotelin geni ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir ve bu bulgular endotelinin hipertansiyon gelişimindeki muhtemel rolünü desteklemektedir [26,33-35].

Endotelden salınan ve damar tonusunun belirlenmesinde önemli katkısı olan başka bir ajan da NO'dur. Bazal şartlarda vücuttaki NO üretimi hipertansiyonlu hastalarda bozulmuştur. Bozulmuş NO üretiminin hipertansiyonda ve aterosklerozda rolü olabilir. Hipertansif hastaların NO uyarıcılarına verdikleri vazodilatör yanıtları da genelde bozuk bulunmuştur. NO üretimi için prekürsör olan L-arginin bol bulunan ve geri dönüşümlü bir substrattır ve hipertansiyonda azalan NO üretiminin substrat üretimine bağlı olmadığı savunulmaktadır. Bunun yanında hipertansiyonda NO yıkımı da artar ve etkinliği azalabilir [35-36].

2.3. Hipertansiyonun Epidemiyolojisi

Hipertansiyon ırk, coğrafya, yaş ve cinsiyete göre değişen bir sıklıkta görülmektedir. Dünya üzerinde yaklaşık 1 milyar bireyin hipertansiyon tehdidi altında bulunduğu ve her yıl ortalama 7.1 milyon kişide ölüme sebep olduğu tahmin edilmektedir [37]. Hipertansiyon gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere erişkin nüfusun yaklaşık % 20'sinde görülmektedir [38]. Hastalık 40 yaşın altında seyrek görülürken, 40 yaşın üstünde görülme sıklığı yaş ile orantılı bir şekilde artmakta, 65 yaşın üzerinde ise %50'yi geçmektedir. Genel olarak hipertansiyonun görülme sıklığı erkeklerde kadınlara oranla 55 yaşına kadar yüksek seyrederken, bu yaşın üzerinde kadınlarda da artmaktadır [39]. Kadınların menopoza sonrası düşen hormon düzeyleri (östrojen, progesteron) hipertansiyon

görülme sıklığını arttırmaktadır. Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği'nce 2003 yılında yapılan "Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması"na göre ülkemizde hipertansiyonun görülme sıklığı, % 31.8 olarak kaydedilmiştir. Bu oran kadınlarda (% 36.1) erkeklerden (% 27.5) daha yüksek bulunmuştur [40].

2.4. Hipertansiyonun Etiyolojisi

Hipertansiyon'un %90-94'ünün nedeni bilinmez. Bu tip hipertansiyona esansiyel yada idyopatik hipertansiyon denilmektedir. Aile öyküsü, aralıklı kan basıncı artışı esansiyel hipertansiyonun lehinedir. Yine yatar pozisyonundan ayakta pozisyona geçerken diastolik basınç artarsa bu esansiyel hipertansiyon lehinedir. Hipertansiyonun nedeni bilinirse buna sekonder hipertansiyon denmektedir. Sekonder hipertansiyon genellikle 35 yaştan önce veya 55 yaştan sonra başlar. Antihipertansif kullanmayan bir hastada yatar pozisyonundan ayakta pozisyona geçerken diastolik basınçta düşme olursa sekonder hipertansiyon lehinedir [35-36,41-43].

2.4. 1. Hipertansiyonun Etiyolojisine Göre Sınıflandırılması

2.4.1.1. Primer (Esansiyel) Hipertansiyon

Primer hipertansiyonun etyopatogenezinde kabul edilen genel görüş multifaktöryel olduğudur. Primer Hipertansiyon'da suçlanan mekanizmalar şunlardır [26,33-36,41-43]:

1. Genetik faktörler
2. Fazla sodyum alımı, renal sodyum atılımında defekt
3. Obezite
4. İnsülin rezistansı
5. Renin-anjiyotensin sisteminin rolü
6. Sempatik sinir sistemi rolü
7. Düşük doğum ağırlığı
8. Endotelial disfonksiyon
9. Büyüme faktörleri

2.4.1.2. Sekonder Hipertansiyon

Sekonder hipertansiyon, damar sertliği veya böbrek yetmezliği gibi bilinen bir etyolojiden kaynaklanmaktadır [44]. Neden olan hastalık tedavi edildiğinde hipertansiyon düzelebilir [45].

Sekonder hipertansiyon genel olarak çeşitli ilaç ve kimyasal maddelerin kullanımı ve hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Sekonder hipertansiyonun gelişiminde kortikosteroidler, adrenokortikotropik hormon (ACTH), östrojen, oral kontraseptifler, antidepresanlar, eritropoetin gibi ilaçların ve sodyum klorür, alkol, ağır metaller, lityum tuzları gibi kimyasal maddelerin kullanımının; kronik böbrek hastalığı, renovasküler hastalıklar, primer hiperaldosteronizm, Cushing sendromu, feokromositoma, tiroid ve paratiroid ile ilişkili hastalıkların rol oynadığı bildirilmektedir [46].

2.4.2. Hipertansiyonun Hedef Organ Hasarına Göre Sınıflandırılması

Daha çok klinik uygulamada kullanılan bu sınıflamada hastalar kan basıncı düzeyine göre değil, yaşamsal önemi olan bazı organlardaki değişikliklerin varlığına ve şiddetine göre gruplanır [47]. Buna göre;

Birinci evre hipertansiyon: Organlarda herhangi bir değişiklik yoktur.

İkinci evre hipertansiyon: Kalp, göz dibi ya da böbreklerde hafif değişikliklerin olduğu gruptur. Yani kalpte myokard infarktüsü, göz dibinde arterlerde incelmeye, hafif kreatinin yükselmesi ve proteinüri gibi bulgulardan herhangi birinin olduğu hastalar bu gruba girer.

Üçüncü evre hipertansiyon: Organlarda daha ileri değişiklikler vardır. Sol ventrikül yetmezliği ya da koroner yetmezlik, göz dibi kanamaları, eksudaları hatta papilla ödemi ile intrakranial kanama, tromboz, serebrovasküler hastalık ve böbrek yetmezliği bulguları bulunabilir.

2.5. Hipertansiyonun Komplikasyonları

Hipertansiyon seyri sırasında semptom oluşturmada ilerlemekte ve özellikle beyin, kalp, damar, böbrekler ve göz gibi hedef organlarda olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Uzun süre devam eden hipertansiyonda görülen hedef organ hasarının büyük bir bölümünden mikrosirkülasyondaki yapısal değişiklikler sorumlu tutulmaktadır. Çünkü, mikrosirkülasyon yani arteriyol, venül ve kapillerler gibi küçük damarlardaki kan dolaşımı, damar direncini ve sonuçta arteriyel basıncı kontrol eden esas vasküler kısımdır. Bu sebeple, oluşabilecek mikrovasküler değişikliklerin hipertansiyon aracılı organ hasarlarında rol oynadığı düşünülmektedir [22,48].

2.5.1. Kardiyak Komplikasyonlar

2.5.1.1. Sol Ventrikül Hipertrofisi ve Kalp Yetmezliği

Hipertansif hastalarda en çok karşılaşılan organ hasarı sol ventrikül hipertrofisidir (SVH). Yükselmiş sistemik damar direncine cevap olarak gelişen hipertrofinin belli bir noktaya kadar kompensatör mekanizma ile koruyucu olduğu düşünülmektedir. Bu noktanın ötesinde ise, SVH kontraktilite artışı, artmış rölatif duvar kalınlığı, sistolik ve diyastolik fonksiyon bozukluğu gibi ciddi kalp damar hasarına sebep olan güçlü bir etmen halini almaktadır [49]. İlk olarak Framingham çalışmasında ağır hipertansiyonlu hastaların yüksek kan basıncı ile ilişkili olarak sol ventrikül kitlelerinde artış eğilimi olduğu gösterilmiştir [50]. Ekokardiyografi ile saptanabilecek kadar sol ventrikül hipertrofisi oluştuğunda yaş, kan basıncı, hiperlipidemi, sigara gibi faktörlerden bağımsız olarak ölüm oranı yönünden önemli bir risk faktörü oluşturduğu araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir [51,52].

2.5.1.2. Anjina ve Miyokard İnfarktüsü

Anjina pektoris, miyokarda geçici olarak yetersiz oksijen gitmesine bağlı (miyokard iskemisi), nöbetler halinde kendini gösteren göğüs ağrısı olarak tanımlanmaktadır. Miyokard iskemisi açısından arteriyel hipertansiyon önemli bir risk faktörünü teşkil etmektedir [22,53]. Gelişiminde, ateroskleroza bağlı olarak koroner arterlerin daralması veya tıkanması ve daha ileri aşamalarda aterosklerotik plakların kopmasıyla miyokard infarktüsüne yol açması rol oynamaktadır. Bununla birlikte, koroner arterlerde görülen yapısal farklılıklar veya kalbin mikrovasküleritesindeki değişikliklerle gizlice ilerleyen iskemiyeye bağlı olarak da gelişme göstermektedir [54,55]. Hipertansiyona bağlı olarak küçük arterler ve arteriyollerde kalınlaşma olması ve yine hipertansif kalp hastalıklarında kapiller dansite ve kapillerler arası uzaklık gibi parametrelerin değişiklik göstermesi hipertansiyon ile iskemi arasındaki ilişkiye açıklık getirmektedir [48].

2.5.1.3. Koroner arter hastalığı

Hipertansiyon koroner arter hastalıkları açısından ilk sırada yer alan bir risk faktörüdür. Hipertansif hastalarda koroner arterler sağlam bulunsa dahi, sol ventrikül koroner rezervinin belirgin olarak azaldığı saptanmıştır. Bu azalma koroner anjiyogram ile gösterilemeyen küçük koroner arterlerin muhtemelen organik veya fonksiyonel daralması ile; yani mikroanjiyopati ile ilgilidir. Koroner ateroskleroz görülme sıklığı da hipertansiflerde normotansiflere oranla çok daha yüksektir. Azalmış olan koroner arter rezervi, hipertansif hastalarda anjinal ağrıların ortaya çıkışını hızlandırmaktadır [56].

2.5.2. Serebrovasküler Komplikasyonlar

2.5.2.1. İnme ve Geçici İskemik Atak

İnme, serebral infarktüs (iskemik inme) ve intrakraniyal hemoraji (beyin-içi kanama) olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Serebral infarktlarda neden, kalpten gelen pıhtının beyin damarlarını tıkaması veya beyin damarlarında ateroskleroz gelişimidir. İntrakraniyal hemoraji inme olgularının % 15-20'sini kapsamaktadır. Beyin içindeki belirli küçük kan damarlarında meydana gelen tıkanıklık ise laküner inme olarak bilinmektedir ve genellikle kronik hipertansiyon kaynaklıdır [57]. Geçici iskemik atak (GİA) ise; kan akımı yetersizliğine bağlı olarak gelişen, akut, fokal serebral fonksiyon bozukluğuna ait kısa süreli semptomlarla karakterize olan klinik bir sendromdur. İskemik inmeye yol açan tüm etiyolojik faktörler GİA nedeni de olabilir. Altta yatan neden çoğunlukla arter duvarından kopan aterosklerotik plakların damarlarda tıkanıklık oluşturmalarıdır [22].

2.5.2.2. Demans

Demans, kişinin kognitif fonksiyonlarında ilerleyici bozukluğa neden olan hafıza, zihin, dikkat ve sosyal adaptasyon kaybı gibi semptomları tanımlamak için kullanılan ortak bir ifadedir. Demansın nedenleri arasında, Alzheimer, Huntington, Parkinson gibi başlıca nörodejeneratif bozukluklar, enfeksiyon, kanser ve fiziksel hasarlar bulunmaktadır. Nedenler ayrıca, vasküler (multi-infarkt, Binswanger sendromu) veya enflamatuar (multipl skleroz, vaskülit) kökenli olabilmektedir. Hipertansiyon serebrovasküler hastalıkların başlıca risk

faktörlerinden biri olmakla birlikte, birçok epidemiyolojik çalışma yaşamın ileri dönemlerinde kan basıncı düzeyi ile kognitif bozukluk veya demans arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır [58,59].

2.5.3. Renal Komplikasyonlar

Hipertansif renal hasar; sistemik kan basıncı yüksekliğinin (sistolik, ortalama diyastolik, nabız basıncı ve kan basıncı değişkenliği) etkisiyle başlayan veya hızlanan böbrek harabiyeti olarak tanımlanmaktadır [60]. Esansiyel hipertansiyonda oluşan böbrek hasarı, renal arterlerde sertleşme, glomerüllerde fibrinoid yapılaşma ve proteinüri şeklinde olmaktadır. Sistemik hipertansiyonun böbrek damar yatağındaki etkisi mikrosirkülasyon derecesine bağlı iken; bununla birlikte pre-glomerüler otoregülatör mekanizma böbrekte kan akımı ve basıncını sağlamada yetersiz kaldığında renal hasar oluşumu hızlanmaktadır [61].

2.5.4. Vasküler Komplikasyonlar

Hipertansiyon komplikasyonlarını büyük arterler ve özellikle aortada sıklıkla göstermektedir. Damar içi basınç artışı arter duvarında hem fonksiyonel hem de yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Hücreler arası bağlantıların bozulması sonucu artan hücre geçirgenliği, endotel yüzeyin hasarına ve düz kas hücrelerinin büyümesine neden olmaktadır. Arter duvarındaki katmanlarda meydana gelen bu olumsuz yapısal değişiklikler hipertansif vakalarda görülen periferik direncin artışına neden olmaktadır [62]. Aterosklerozun hızlanması da yüksek kan basıncının patolojik sonuçlarından biridir. Aterosklerotik aort anevrizmaları, aort diseksiyonu, periferik arter hastalığı hipertansiyon etkisiyle gelişimi hızlanan diğer damar lezyonlarına örnek olarak verilebilir.

2.5.5. Gözle İlişkili Komplikasyonlar

Hipertansif retinopati, kontrol edilmeyen kronik hipertansiyon yani kan basıncının devamlı yüksek olması durumunda retinal arteriyollerde ve retinanın mikrosirkülasyonunda oluşan değişikliklere bağlı olarak hipertansif retinopati gelişmektedir. Hipertansif retinopatinin belirtileri sıklıkla 40 yaş ve üzerinde ve non-diyabetik kabul edilen popülasyonun % 2-14'ünde tanımlanmaktadır. Bu belirtiler, diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak, inme, konjestif kalp yetmezliği ve ölüm oranının tahmininde belirleyici rol oynamaktadır [63].

2.6. Deneysel Hipertansiyon Modelleri

Hipertansiyonun etkilediği popülasyon yüzdesi ve uzun vadedeki mortalite ve morbiditeye etkisi göz önüne alındığında, bu konuda yapılan araştırma sayısının neden fazla olduğu anlaşılacaktır. Hipertansiyonun mekanizmasını ve tedavisini aydınlatmak için yapılan araştırmalarda çok farklı yaklaşımlar uygulanmaktadır. Hipertansiyon araştırmalarında yüksek kan basıncı değerleri olan insanların yanında kendiliğinden hipertansif sıçanlar veya hipertansif hale getirilen deney hayvanları da fizyopatolojik ve tedaviye yönelik araştırmalarda kullanılmaktadır. Aşağıda deney hayvanlarında kullanılan hipertansiyon modellerinin en önemlilerinden söz edilecektir.

2.6.1. Spontan Hipertansif Sıçanlar

Bu hayvanlar normalin üzerinde kan basıncı değerlerine sahip sıçanların en az birkaç nesil boyunca kendi aralarında çiftleştirilmesiyle elde edilir. Böylece, başta normotansif olmalarına karşın yaşı arttıkça sistolik kan basınçları 190 mmHg üzerine çıkan hayvanlar üretilebilir [64]. Genetik predispozisyon nedeniyle kendiliğinden gelişen sıçanlardaki bu hipertansiyon, insanlardaki esansiyel hipertansiyon oluşumunu andırır [65].

2.6.2. DOCA- Tuz Hipertansiyon Modeli

Bir böbreği alınmış sıçanlara, cerrahi müdahalenin iyileşme sürecini takiben, DOCA'nın (deoxycorticosterone-Acetate) periyodik cilt altı enjeksiyonu ile ve içme suyu olarak %1 'lik sodyum klorür çözeltisi verilmesiyle hayvanların kan basıncı yükselir [66].

2.6.3. Goldblatt Hipertansiyon Modeli

Sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılan diğer bir yöntem gümüş bir klips yardımıyla böbrek arterlerine yapılan girişimlerdir. Her iki böbrek sağlamken bir renal arter klipsle daraltılırsa "iki böbrek bir klips" modeli olarak adlandırılır [67]. Bununla birlikte böbreklerden birinin alınması ve kalan böbreğin arterine klips yerleştirilmesiyle "bir böbrek bir klips" modeline uyan hayvanlar elde edilir ve bunlarda da kan basıncı artar [68].

2.6.4. Dahi-Tuz Hipertansiyon Modeli

Dahi ve ark. tarafından, genetik özellikleri farklı iki ayrı sıçan soyu geliştirilmiştir. Bunlar tuza dirençli ve tuza duyarlı alt türlerdir. Tuza duyarlı olan sıçanlarda normalin üzerinde tuz alımı hipertansiyon oluşumunu uyarır [69].

2.6.5. NOS Blokajıyla Oluşan Hipertansiyon Modeli

İlk defa 1992 yılında iki ayrı araştırma grubu kronik NOS inhibisyonunun yeni bir arterial hipertansiyon modeli olarak kullanılabileceğini bildirmiştir. Bu bulgu, NO'nun kan basıncının uzun dönem düzenlenmesinde gerekli olduğu verileriyle uyumludur. Sıçanlarda farklı dozlarda verilen NOS inhibitörünün hipertansiyona yol açmasının yanında yüksek dozları daha ağır hipertansiyona ve böbrek hasarına neden olur [70]. Bu verilerin değişik araştırmacılar tarafından doğrulanması kronik NOS inhibisyonunun yeni bir arterial hipertansiyon modeli olarak yerleşmesini sağlamıştır. Sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılan ilk NOS inhibitörü bir L-arginin analogu olan L-NAME'dir [70,71]. L-NAME'nin suda çözünmesi ve içme suyuyla kolayca hayvanlara verilebilmesi, son yıllarda bu modelin yaygın olarak kullanılmasına yol açtı. Bunun dışında L-NAME'nin intraperitoneal enjeksiyonu da sıçanlarda hipertansiyon oluşturulabilir [72]. İlk defa Baylis ve ark. L-NAME'nin sekiz hafta boyunca 5 mg/kg/gün'lük dozda verilmesiyle sıçanlarda stabil hipertansiyon ve glomerüloskleroz gelişimine neden olduğunu bulmuştur [70,71]. L-NAME'nin bir litre içme suyu içinde 600mg dozunda verilmesiyle birkaç gün içinde ratların kan basıncı yükseltmektedir. L-NAME'nin 21 gün süre ile bu şekilde uygulanması "deneysel kronik hipertansiyon modeli" ni oluşturmaktadır. Yine aynı yıl Ribeiro ve ark. çalışma grubu L-NAME'nin 70 mg/kg/gün'lük dozunun daha ağır bir hipertansiyona neden olduğunu ve buna glomerüler iskemi, glomerüloskleroz gibi

patolojilerin eşlik ettiğini gözlemiştir [70-72]. Çalışmalarında sıçanlardaki L-NAME hipertansiyon modelini kullanan araştırmacılar bu inhibitörün değişik dozlardaki ve uygulama sürelerindeki etkisini de incelemiştir. Araştırmalarda değişik kan basıncı değerleri saptanmasının yanında gözlenen net etki kan basınçlarını anlamlı olarak yükselten, uygulama süresine ve doza bağımlı bir etkidir. Fakat yine de aynı veya yakın yaştaki sıçanlara L-NAME'nin yakın dozlarının verilmesiyle çok benzer veriler elde edilmemiştir. Sıçanlarda aynı dozda uygulanan L- NAME farklı soylarda değişik hipertansif cevaplara yol açar . Bu farklı kan basıncı artışlarına rağmen kronik olarak uygulanan yüksek dozdaki L-NAME'nin daha büyük vasküler ve renal patolojilerin gelişmesine neden olduğu bilinen bir durumdur [70-72].

2.7. Deney Hayvanlarında Kan Basıncının Ölçümü ve Takibi

Hayvanlarda gelişen hipertansiyonun belirlenmesi ve periyodik takibinin sağlanması için deneyin süresine ve şartlarına bağlı olarak kan basıncının çeşitli yöntemlerle ölçümü gerçekleştirilmektedir. Kan basıncı ölçümü sırasında anestezi kullanımı, sadece hayvanın immobilizasyonunda güçlük yaşandığı durumlarda tavsiye edilmektedir. Anestezi, kan basıncı tayinini ve doğru ölçüm alabilmeyi kolaylaştırmakta fakat başka değişkenlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Örneğin; yapılan bazı çalışmalar anestezik ajanların kan basıncı değerini ve kardiyovasküler refleksleri değiştirdiğini ortaya koymuştur [73].

Deney hayvanlarında kan basıncı direkt (invazif) veya indirekt (noninvazif) yöntemlerle ölçülmektedir. Seçilecek yöntemin uygunluğu büyük ölçüde çalışmanın konusuna bağlıdır. Araştırmacı açısından önemli olan nokta, deney tasarımına göre en kesin ve en güvenilir veriyi sağlayabilecek yöntemin seçilmesidir.

2.7.1. Direkt Ölçüm Yöntemleri

- i. Radyotelemetri
- ii. “Fluid-filled” kateter-transdüser sistemi
- iii. Transdüser uçlu kateter kullanımı

i. Radyotelemetri

Büyük (maymun, köpek) ve küçük (sıçan, fare) deney hayvanlarına uygulanabilen bir yöntemdir. Anestezi gerektirmemesi ve hareketin kısıtlanmaması en önemli avantajlarından biridir. Radyotelemetrik transmitterler aracılığıyla kan basıncını sürekli olarak kaydetmek mümkündür. Ancak çok küçük hayvanlarda (vücut ağırlığı <25 g) büyük transmitterler (>2 g) stres oluşturabilir. Özellikle küçük deney hayvanları üzerinde cerrahi işlem yapabilecek düzeyde eğitim ve yetenek gerektirebilir ve diğer yöntemlere kıyasla pahalı bir sistemdir.

ii. “Fluid-filled” kateter-transdüser sistemi:

En eski ve en yaygın olarak kullanılan arteriyel kan basıncı ölçüm yöntemidir. Bu yöntemde heparinlenmiş sıvı ile doldurulmuş bir kateter, arter içine yerleştirilirken, kateterin öteki ucu ise kalibre edilmiş bir basınç transdüserine bağlıdır. Kan basıncı ölçümü için çoğunlukla karotid veya femoral arter

kullanılmaktadır. Anestezi altındaki deney hayvanlarında akut ölçümler ya da bilinci açık hayvanlarda kan basıncının uzun süreli takibi için kullanılabilir. Kan basıncının sürekli takip edilmediği kronik çalışmalarda kateterin dışarıda kalan bölümü uygun şekilde korunarak transdüserden ayrı tutulabilir ve gerektiğinde bağlanarak ölçümler alınabilir. Uzun süreli ve sürekli kayıt alınması gerektiği durumlarda ise deney hayvanının kafes içinde serbest olarak dolaşımını sağlayacak uygun ekipmanlar (Swivel-tether sistemi) kullanılmaktadır. Swivel-tether sistemi ile damar içine kimyasal madde ya da ilaç infüzyonu yapmak da mümkündür.

iii. Transdüser uçlu kateter kullanımı:

Farklı ölçülerde bulunmaları nedeniyle fare ve daha büyük memelilerde rahatlıkla kullanılabilirler. Fluid-filled kateter-transdüser sistemi ile karşılaştırıldığında daha iyi frekans yanıtı sağlarlar.

2.7.2. İndirekt Ölçüm Yöntemleri (“Kuyruk-manşon [Tail-cuff]” Yöntemi)

Kuyruk-manşon (tail-cuff) yöntemi özellikle rodentlerde (genellikle sıçan) kan basıncının ölçümü ve takibinde halen en çok kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde deney hayvanının sistolik kan basıncı değeri ölçülmektedir. Sistolik kan basıncı; kuyruğa yerleştirilmiş olan manşonun şişirilmesi ve boşaltılması sırasında kan akımında değişikliğin olduğu andaki manşon basıncı ölçülerek belirlenmektedir. Ölçüm kuyruktaki kaudal arterin pulsatil kan akışının izlenmesi esasına dayanır. Cerrahi uygulama gerektirmez ve kısa ya da uzun süreli çalışmalarda anestezi yapılmaksızın deney hayvanlarında sistolik kan basıncının tekrarlanarak ölçülmesine olanak sağlar. Fakat günlük ortalama sistolik kan basıncını ölçmek mümkün değildir ve tekrarlanan ölçümlerde önemli farklılıklar görülebilir [74]. Ölçüm öncesinde deney hayvanının bir ısı pedi üzerinde veya ısı çemberi içinde ısıtılması gereklidir. Aksi takdirde pulsatil kan akımı ölçülemeyebilir [75].

2.8. Nitrik Oksit

Basit bir gaz molekülü olan NO'nun doğada varlığı çok eskiden beri bilinmektedir. NO atmosferin üst tabakalarında bulunmasının yanı sıra; taşıt egzozlarında, elektrik trafolarında ve asit yağmurlarında da zehirli bir gaz olarak ortaya çıkabilmektedir. Organizmadaki rolü 1980'lerde ortaya konabilmiştir. İlk olarak Furchgott ve Zawatzki asetil kolinin yol açtığı endotele bağımlı damar gevşemelerinden EDRF'nin sorumlu olduğunu göstermişlerdir. Damar endotelinden salıverilen bu faktörün, daha sonra yapılan çalışmalarda NO olduğu anlaşılmıştır. Ancak EDRF'nin sadece NO'den ibaret olmadığı, EDHF'nin (endothelium-Derived Hyperpolarising Factor) de, EDRF içinde yer aldığına dair bulgular bulunmaktadır [76,77].

NO hem bazal şartlarda salgılanarak sürekli damar tonusunu düzenlemektedir, hem de çeşitli egzogen ve endojen uyarılarla salgılanabilmektedir. Asetilkolin, ADP, ATP, anjiyotensinII, noradrenalin, araşidonik asit, substans P, histamin, bradikinin, serotonin, endotelin, trombin, vazopressin, NO salgılanmasını uyanan etkenlerdendir. NO'in yarı ömrü oldukça kısadır. Saniyeler içinde (2-30 sn) inaktive olması nedeniyle etkisi lokaldır ve kısa

sürmektedir. NO'nun bir çok etkisi bildirilmiştir. Vasodilatör, venodilatör, (-) inotrop, antiagregan, hücre koruyucu, nörotransmitter, nöromodulator, immün modulator, mikroorganizma ve tümör hücresi öldürücü etkileri ortaya konmuştur [76,77].

NO organizmada, L-argininin L-sitrüline dönüşümü sırasında açığa çıkmakta ve bu reaksiyonu nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi gerçekleştirmektedir. Tepkimeyi katalizleyen NOS'un üç izoformu bulunmaktadır. Tip 1 formu; nöronal NOS (nNOS), tip 2 indüklenebilir NOS (iNOS) ve tip 3 endotelial NOS (eNOS). Bazen nNOS ve eNOS'a beraber yapısal NOS da denilebilmektedir. Kalsiyuma bağımlı olan nöronal ve endotelial NOS, sürekli olarak az miktarda sentezlenmektedir. Makrofajlar, miyositler, düz kas hücreleri ve hepatositlerde bulunan iNOS, belirli sitokinlerin uyarısıyla NO üretmektedir [76,77].

2.8.1. Nitrik Oksit ve Hipertansiyon

Nitrik oksit bazal uyarılmış durumda sistemik kan basıncının regülasyonunda rol oynamaktadır. Ancak NO'nun hipertansiyondaki rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır. Hipertansiyonda azalan NO'nun hipertansiyonun nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu da, henüz anlaşılamamıştır. Spontan hipertansif sıçan aortalarının endotele bağımlı gevşemeleri, normal sıçanlarınkinden daha düşük bulunmasına karşın, mesenterik yataktaki dirençli arterin gevşemeleri hipertansiyonda kontrolden farklı değildir. İnsan deneylerinde hipertansif kişilerin ön kol kan akımının pletismografik olarak ölçülmesi yöntemi kullanılmaktadır. Hipertansiyonlu hastalarda ön kol kan akımının asetil kolin ile artışı normotansiflerden daha düşüktür ve hem normotansif hem de hipertansiflerde yaşla birlikte azalmaktadır. L-arginin normotansiflerin asetil kolin cevaplarını artırırken, hipertansiflerin asetil kolin cevaplarını etkilememiştir. Endotelden bağımsız olarak NO aracılı gevşeme yapan sodyum nitroprusit cevabı iki grupta farklı değildir ve L-arginin cevapları da sodyum nitroprusit ile değişmemiştir. Diğer yandan, NO'nun yıkım ürünleri olan nitrit ve nitratın 24 saatlik idrardaki düzeyi hipertansiyonlu hastalarda daha düşüktür. Ayrıca NO sentez inhibitörlerinin akut sistemik verilışı, sistemik kan basıncı etkilenmeden tuz itrahında renal kapasiteyi azaltmaktadır ve renovasküler direnci artırmaktadır. Uzun süre NO sentezinin engellenmesi, sistemik kan basıncını yükseltmekte ve renovasküler parankimal hasara yol açmaktadır. NO sentezi blokajına renovasküler yatak, sistemik dolaşımdan daha duyarlıdır. NO sentez inhibisyonunun renal kan akımını ve glomerül filtrasyon hızını azaltması, renal NO'nun böbrek dolaşımı için yaşamsal önemini göstermektedir. NO eksikliğinin genetik bozukluktan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Genetik olarak eNOS geni silinmiş homozigot ve heterozigot farelerde; sistemik kan basıncı normalden daha yüksektir ve plazma renin düzeyi homozigot farelerde normalin iki katı kadar bulunmuştur. Ancak insan çalışmalarında eNOS geni ile hipertansiyon arasında ilişki bulunamamıştır. Genel dolaşımda NO'nun azalması yanında, endojen NO inhibitörü olan asimetrik dimetilarginin (ADMA)'in artışı da söz konusudur. Antioksidanların hipertansiyonda azalan endotel işlevlerini düzeltebilmesi, artan oksidan stresin NO azalmasına neden olabileceğini akla getirmiştir. Endotel kaynaklı prostasiklin, EDHF ve NO vasodilatör; endoperoksitler, TXA2 ve

endotelin vasokonstriktördür. Endotel kaynaklı vazokonstriktörler hipertansiyonda artmaktadır. Siklooksijenaz inhibisyonunun hipertansiyonda azalan endotele bağımlı gevşeme cevaplarını düzeltebilmesi; hipertansiyonun damarda kasıcı ve gevşetici ajanların dengesizliğinden kaynaklanabileceğini göstermektedir. Antihipertansif tedaviyle endotel işlevlerinin düzeltilmesi, hipertansiyondaki endotel işlevlerindeki bozuklukların, hastalığın nedeni değil sonucu olduğu fikrini ortaya koymuştur. Ancak hipertansiyondaki patolojiden sorumlu olan damar düz kası büyüyüp bölünmesi çeşitli etkenlerle uyarılabilmektedir. FBF, TKBF, noradrenalin, A-II, endotelin, damar düz kası büyümesini etkileyen ajanlardan bazılarıdır. Endotel hücresi ise büyüme engelleyen heparin-heparan sülfat, TGF- β , NO ve prostasiklin salgılamaktadır. Düz kasta RAS'ın etkisiyle remodeling hipertrofi gelişmektedir. ACE inhibitörlerinin uzun süreli kullanımı vasküler "remodeling"i düzeltmektedir. Lokal veya sistemik renin-anjiyotensin sistemi hipertansiyon etyopatolojisinde önemlidir ve renin salgılanmasının NO tarafından engellenmesi, NO azalmasının hipertansiyonun sonucu değil nedeni olabileceği görüşünü desteklemektedir. Sistemik hipertansiyonda gözlenen bu bulgular NO'nin hipertansiyon patogeneğinde rol oynadığını ortaya koymuştur. Nedeni henüz kesin olarak bulunmamakla birlikte bu veriler, hipertansiyonda NO sisteminde bir bozukluğun olduğunu ve nedenin NO'nun salgılanmasındaki azalmayla birlikte, NO biyoyararlanımındaki azalmadan da kaynaklanabileceğini düşündürmektedir [78,79].

Endotel hücrelerinin damarlardaki stratejik konumu onun çeşitli risk faktörlerine doğrudan, sürekli ve en erken maruz kalmasına neden olmaktadır. Esansiyel hipertansiyonda periferik, koroner ve renal vasküler yataklardaki endotel hücresinin işlevlerindeki bozukluklar ortaya konmuştur. Bozuklukta NO salgılanmasının veya etkinliğinin azalması en önemli noktayı oluşturmaktadır. Bu nedenle esansiyel hipertansiyon tedavisinde kan basıncının düşürülmesi yanında, endotel işlevlerinin (NO sentezinin) iyileştirilmesi son zamanlarda tedavi prensibi olarak kabul görmektedir [35,76,77].

2.9. Apelin

2.9.1. Tarihçe, Yağ Dokusu ve Apelin

Yetişkin memelilerde yağ dokusu kitlesi büyük oranda adiposit olarak adlandırılan lipid dolu hücrelerin gevşek olarak bağlanması ile oluşmaktadır. Yağ dokusundan kaynaklanan adipokinlerin obezitenin komplikasyonları olan hiperlipidemi, diyabet, hipertansiyon, aterosklerozis ve kalp yetmezliği gibi hastalıkların patogeneğinde rol oynadıkları bilinmektedir [80].

Apelin ters farmakoloji ile keşfedilmiş bir adipokindir. Öncelikle reseptörü tespit edilmiş, ardından bu reseptörün endojen ligandı olarak apelin molekülü izole edilmiştir [81]. Apelin transkripsiyonu ve immünreaktivitesi santral sinir sistemi, kalp, akciğer ve meme dokusu gibi birçok periferik dokuda gözlenmiştir. Bu yaygın periferik ekspresyon nedeniyle, apelinin endotel hücresi kaynaklı olabileceği düşünülmüştür [82].

2.9.2. Apelin Reseptörü

1993 yılında O'Dowd ve ark. [83] anjiyotensin tip 1 reseptör geniyle oldukça büyük diziliş benzerliği gösteren bir gen keşfetmişlerdir. Bu yeni gen, APJ olarak isimlendirilerek G protein bağlı reseptör olarak kodlanmıştır [83]. APJ, Tatemoto ve ark. [84] 1998 yılında apelin tanımlayana kadar "Orphan" olarak isimlendirilmiştir. APJ (apelin reseptörü, AR, anjiyotensin 1 benzeri reseptör) orjinal olarak insan genomik DNA'sından polimeraz zincir reaksiyonu yoluyla izole edilmiştir. 380 aminoasitten oluşan bu reseptörün geni 11. kromozomun q12.1 kısmında yerleşmiştir [83]. Bu reseptör, AGTRL1, APJ, APJR ve FLJ90771 gibi birkaç isme de sahiptir (96). APJ fare, sıçan, maymun, inek, zebra ve kurbağa gibi diğer birkaç türde de tanımlanmıştır [85]. APJ ekspresyonu, sıçanlarda hemen hemen tüm perifer dokularda gösterilmiştir ancak kalp ve akciğerlerde en yüksek oranda bulunmuştur [86]. Daha düşük seviyede sıçan böbrek, hipofiz bezi ve iskelet kasında ve ayrıca endokardiyal ve endotelial hücrelerde eksprese edilmektedir [87-90].

İnsanlarda ise APJ mRNA; karaciğer, mide, pankreas, vasküler endotelial ve düz kas hücreleri, plasenta, adipoz doku, akciğerler, kalp, timus, prostat, testis, ovaryum, dalak, barsaklar ve beyin olmak üzere birçok merkezi ve perifer dokularda bulunmuştur [87-93]. Ayrıca büyük çaplı kan damarlarında otoradyografiyle apelin bağlı bölümlerin varlığı belirlenmiştir [94]. Beyinde APJ ekspresyonu, beyaz maddenin glial hücrelerinde [95] serebral korteks, epifiz bezi, hipofiz bezi, hipokampus, piriform korteks, dentat girus, lateral olfaktor traktus nükleusları, dorsal rafe nükleuslarında ve hipotalamusta [88,90,95] gösterilmekle birlikte beyindeki en yoğun ekspresyon bölgeleri hipotalamustaki paraventriküler ve supraoptik nükleuslar olarak tespit edilmiştir [87,93]. Fare apelin reseptörü 377 aminoasitten oluşmuştur ve insan apelin reseptörüyle % 91 diziliş benzerliği vardır. Sıçan apelin reseptörü ise 377 aminoasitten oluşmuştur ve insan reseptörüyle % 89 diziliş benzerliği vardır [85]. APJ ile Angiotensin II (AT2) reseptör arasında önemli yapısal benzerlik (aminoasit dizilisi yönüyle % 30-40 benzerlik gösterir) olmasına rağmen AT2, APJ ile etkileşme girmemektedir. Her iki reseptör arasında tüm aminoasit dizisinde 115 aminoasit (% 30) [96] ve transmembran bölgede 86 aminoasit (% 54) aynıdır [83], aynı zamanda doku ekspresyonunda yüksek oranda benzerlik vardır [88]. Bu benzerliklere rağmen AT2, apelin reseptörüne bağlanmadığı gibi, apelin de AT1 reseptöre bağlanmamaktadır [93,97].

2.9.3. Apelinin Fizyolojik Etkileri

Apelin birçok sistemi etkilese de en önemli etkisini kardiyovasküler sistem, santral sinir sistemi ve renin anjiyotensin-aldosteron sistemi üzerinden göstermektedir. Düz kas hücrelerine doğrudan etki ederek vazokonstriksiyon ve pozitif inotropik etki yapmaktadır. Ayrıca endotel hücrelerinden nitrik oksit salınımını uyarak vazodilatasyon yapmakta ve kan basıncını düşürmektedir. Apelin farklı bir etki mekanizması ile de vazodilatasyon oluşturmaktadır [98].

2.9.4. Apelinin Kardiyovasküler Etkileri

Apelinin fizyolojik etkilerine bakıldığında henüz açıklanması gereken noktaların olduğu görülmektedir. Apelin-APJ yolu glukoz metabolizmasını, termoregülasyonu ve sıvı dengesini de içeren çeşitli fizyolojik işlevlere katkıda bulunmaktadır. Ancak apelinin önemli fizyolojik etkilerinin kardiyovasküler sistem üzerine olduğu düşünülmektedir [99]. Apelin'in AJP reseptörlerinin kalpteki lokalizasyonları nedeniyle apelin direkt miyokardiyal etkiler göstermektedir. Apelin, izole fare kalbinde subnormal konsantrasyonlarda kasılmayı arttırmaktadır. Normal ve kalp yetmezliklerinin her ikisinde de kardiyomiyositlerinde sarkomer kısalmasına neden olmaktadır. Ayrıca kalp yetmezliği olan fare kalplerindeki izole sağ ventriküler trabeküllerde kontraktileiteyi arttırmaktadır [100-102].

Iwanaga ve ark. [103] sıçanlarda deneysel bir kalp yetmezliği modelinde Apelin/APJ ve angiotensin I/angiotensin II sistemleri arasındaki karşılıklı etkileşimi tarif etmişlerdir. Apelin ve onun APJ mRNA reseptörü; kalp yetmezliği olan sıçanlarda önemli derecede düşüşe geçmiş ve downregüle olmuştur. Bu deneyde, kalp yetmezliği olan sıçanlar bir anjiotensin reseptör blokörü olan telmisartan ile tedavi edildiklerinde klinik gelişme göstermişlerdir. Bunun yanı sıra apelinin ve APJ'nin salınmasında artış göstermişlerdir. Bu da kalp yetmezliğindeki RAAS sistemi ile apelin döngüsünün ilişkili olabileceğini düşündürmektedir [99,100,103].

Apelin/APJ sisteminin miyokard kasılmasındaki etkisini gösteren önceki çalışmalar, apelinin pozitif inotropik etkilerini de açıkça göstermişlerdir. Szekodi ve ark. [103] Apelinin myokard gerilimini uyarmada inotropik cevabın %69'na denk yükseltme kapasitesi ile bilinen en potent inotropilerden biri olduğunu bildirmişlerdir. Apelin'in adrenomedullin ve endotelin gibi potent inotrop olduğu ve etkisinin uzun ömürlü olduğu saptanmıştır. Apelin inotropik etkisini intrasellüler alkalizasyonu sağlayarak, yani intrasellüler kasılma cisimciğindeki Ca duyarlılığını arttırarak ve hücre içi Ca artışına yol açarak yapmaktadır. Bu mekanizmayı açıklamak için hala çalışmalar devam etmektedir. Kronik apelin uygulanmasının kardiyak atımda önemli bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar kardiyak atım ve kasılmadaki artışın kardiyak hipertrofi ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Bu sonuçlar apelinin kalp yetmezliği tedavisinde kullanım olasılığını ortaya koymaktadır [104,105]. Apelin-APJ salınımı kronik kalp yetmezliği olan hastalarda biraz daha farklıdır. Bulgular göstermiştir ki, kalp yetmezliğinin erken evrelerinde plazma apelin konsantrasyonları hafifçe artmaktadır. Halbuki ilerlemiş kalp yetmezliğinde apelin düzeyi azalmaktadır. Literatürde ileri KKY olan hastalardaki plazma apelin düzeylerinin düştüğünü gösteren birçok çalışma mevcuttur [106-108]. Bu çalışmaların sonuçlarına göre apelin salınımı farklı etkenlere bağlıdır;

- a) Hipoksi/iskemiye cevap olarak apelin salınımı artmaktadır.
- b) Kronik basınç aşırı yüklenme ve kalp yetmezliğinin erken evrelerinde apelin düzeyi korunur ya da yükselebilir.
- c) Şiddetli kalp yetmezliğinde ise apelin salınımını azaltmaktadır.

Siddetli kalp yetmezliğinde apelinin salınımında azalmaya katkıda bulunan muhtemel faktörler; artmış RAAS aktivasyonu ve myokardiyal gerginliktir. Bu değişiklikler geri dönüşümlü olabilir. Sol ventrikülün mekanik boşalımı sonrasında kardiyak apelin ve APJ artışı olabilmektedir [99]. Weir ve ark. [109] yaptığı bir çalışmada apelin konsantrasyonlarının MI sonrası sol ventrikül sistolik disfonksiyonlu kalp yetmezliği olmayan hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre düştüğünü göstermişlerdir. Bu çalışmada plazma apelin düzeyi zaman içinde tekrar yükselse de 24. haftada hala düşük kalmıştır. Ayrıca bu çalışmada apelinin plazma düzeyinin sol ventrikül volümü, kütlesi veya fonksiyonu ile ilişkisinin bulunmadığı ve remodellingi etkilemediği bildirilmiştir [109].

2.9.5. Apelinin Kan Basıncı ve Vasküler Tonus Üzerine Etkisi

Sıçanlarda 10 nmol/kg dozunda intravenöz olarak uygulanan apelin kısa sürede (1dk) ortalama arteriyel basınçta bir düşüşe yol açmaktadır. Bu etki geçici bir etki olup 3-4 dakika sürmektedir. Gelişen hipotansiyon bilinçli ve anestezi yapılmamış hayvanlarda kalp hızında hafif bir artışa yol açmaktadır. Apelinle indüklenmiş olan taşikardi baroreseptör refleksinin etkisi ile orataya çıkan sempatik sinir sisteminin stimülasyonu yoluyla olmaktadır [110]. In vivo çalışmalarda apelinin apelinin kalsiyum antagonistlerinden, isoprenalinden ve nitrogliserinden çok daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Apelin kan basıncını periferik arterlerden ziyade çoğunlukla periferik venleri dilate edip, ön yükü azaltarak düşürmektedir [111]. Apelinin hipotansif etkisi endotel kaynaklı nitrik oksit aracılığıyla olmaktadır. Bunun yanında apelinde nitrik oksit metabolitlerinin plazma düzeyini arttırmaktadır. Fare endotel kültürlerinde apelinin endotel kaynaklı nitrik oksit sentetaz enziminin fosforilasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Ancak buna karşıt olarak apelinin sağlam endotel dokusunda nitrik oksit bağımlı vazodilatasyon yaparken, hasarlı endotelde endotelden bağımsız, direkt düz kas hücreleri üzerinden vazokonstriksiyon yapmaktadır. APJ reseptörü bulunmayan transgenik farelerde (APJ-/-) bazal tansiyon değerleri ve kalp hızı diğerlerindeki gibi normal olsa da, apelin-13 normal farelerde tansiyonu düşürürken APJ-/- olan farelerde tansiyon düşürücü etkisi olmadığı anlaşılmıştır. Buradan da APJ reseptörlerinin apelinin hipotansif etkisine yardımcı olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır [112].

2.9.6. Apelin'in Diğer Etkileri

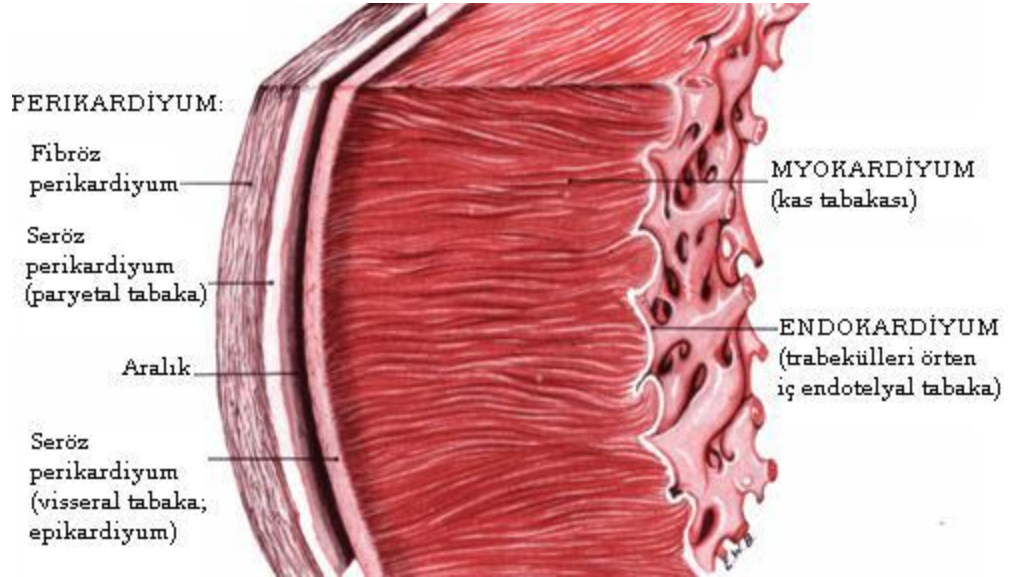
Apelin kardiovasküler sistemin yanı sıra diğer bazı organlar üzerine de etkilere sahiptir. Kronik hastalıklar ve apelin ilişkilerini inceleyen çalışmalarda apelin ile ilgili çok farklı sonuçlar tespit edilmiştir. Apelin'nin organlar üzerine olan etkileri kısaca şunlardır: Apelin kalpte; pozitif inotropik etki gösterir. Damarlarda vazodilatasyon (sağlam endotel), vasokonstriksiyon (hasarlı endotel), NO salınımı ve anjiogenez üzerine etkilidir. Beyinde sempatik uyarı, adrenokortikotropik hormon (ACTH), gonadotropin ve tiroid stimulan hormon (TSH) salınımında artış, beslenmede artış ve su dengesini (antidiüretik hormonu azaltarak) sağlar. Pankreasta insülin sekresyonunu azaltırken kolesistokininin salınımını artırır. Direkt böbrek üzerine etkisi ile diürez sağlar. Yağ dokusunda insülinin etkisini artırır ve TNF- α 'yı azaltır [99,100,106]. Apelin'in farklı dokular üzerine olan etkileri ve etki mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır.

2.10. Kalbin Histolojisi

Kalp kası hücreleri (Myocytus cardiacus) ortada yerleşik tek çekirdekli hücrelerdir. Kalp kası hücrelerinde miyofibriller enine çizgilenme ve bantlaşma gösterirler. Kalp kası hücreleri dallanır ve bu dallar aracılığı ile birbirleriyle bağlantı kurarak 3 boyutlu bir kas ağı oluştururlar. Kas hücrelerinin tek çekirdek içermeleri ve bu çekirdeklerin liflerin merkezine yerleşik olmasıyla da düz kaslara benzer [113-115].

Kalp kası lifleri hücre zarları dışında oldukça iyi gelişmiş bir bazal membran ile çevrelenmişlerdir. Ritmik ve otomatik olarak çalışan kalp kası özel bir biçimde uyarılır. Uyarım üreten ve ileten özel bir sistemi vardır. Bu sistem de kalp kası liflerinden yapılmıştır, esas görevleri kalbin kasılması için uyarı üretmek ve iletmektir. Yapıları kalbin kasılmasında işlev alan hücrelerden biraz farklıdır. Bu lifler miyofibrillerden yoksun sarkoplazmadan zengin olan liflerdir. Miyofibriller liflerin kenarlarında bulunurlar. Bu liflerden bir kısmı kalbin uyarım üreten merkezleri olan sinoatriyal ve atrioventriküler düğümleri oluştururlar. Bu merkezlerde bulunan kas lifleri kalp kası liflerinden daha küçüktür. Merkezlerden çıkan ve gittikçe irileşen kas lifleri his demetlerini oluştururlar. Bu demetlerdeki kas lifleri kalp kası liflerine yaklaştıkça daha da irileşirler. Bunlara purkinje lifleri denir [114-115].

Kalbin duvar yapısı 3 katmandan oluşur. Bunlar içte endokardiyum, ortada miyokardiyum ve dışta perikardiyum'dur [116-118].



Şekil 2.1. Kalp duvar yapısının şematik gösterimi

Endokardiyum endotel, subendotel, miyoelastik ve subendokardial katmanlardan oluşmuştur. Endotel, kalbin iç boşluklarını döşeyen tek katlı yassı

epiteldir. Tek katlı epiteli oluşturan hücreler bir sıra halinde bazal membran üzerine oturmuş, ince ya da alçak boylu poligonal hücrelerden oluşmuştur. Hücreler ince olduğundan çekirdekleri lümene doğru çıkıntı yapar. Tek katlı yassı epitel madde geçişine olanak verdiği için hücre sitoplazmalarında bol miktarda vezikül bulunur. Endotel katmanındaki besinlerin tüm dokulara iletiminde ilk ve en önemli engel olduğundan biyolojik ve patolojik olarak önemlidir.

Miyokardiyum tabakalarının en kalınıdır ve başlıca kalp kası hücrelerinden oluşur. Uyarı ileten sistem ve kalp iskeletinin bazı bölümlerini içerir. Damarların tunika mediası ile eşdeştir. Miyokardiyum'un kalbin farklı bölmelerindeki kalınlığı değişkenlik gösterir. Ventriküllerde, atriumlara karşın daha kalındır, en kalın olduğu yer sol ventriküldür. Kalp kası hücreleri 2 grupta sınıflandırılır: Kasılabilen hücreler ve kalp atımını sağlayan elektrik uyarısını üreten ve ileteniletici hücreler.

Epikardiyum (visseral perikardiyum) kalbi saran seröz zardır. Kalbin en ince katmanıdır. En dış tabaka tek katlı mezotel hücreleri, altında ince bir bazal lamina ve epikardi miyokarda bağlayan subepikardial bağ dokusundan oluşur. Bu tabakada ayrıca koroner damarlar, sinirler, yağ hücreleri ve ganglionlar bulunur.

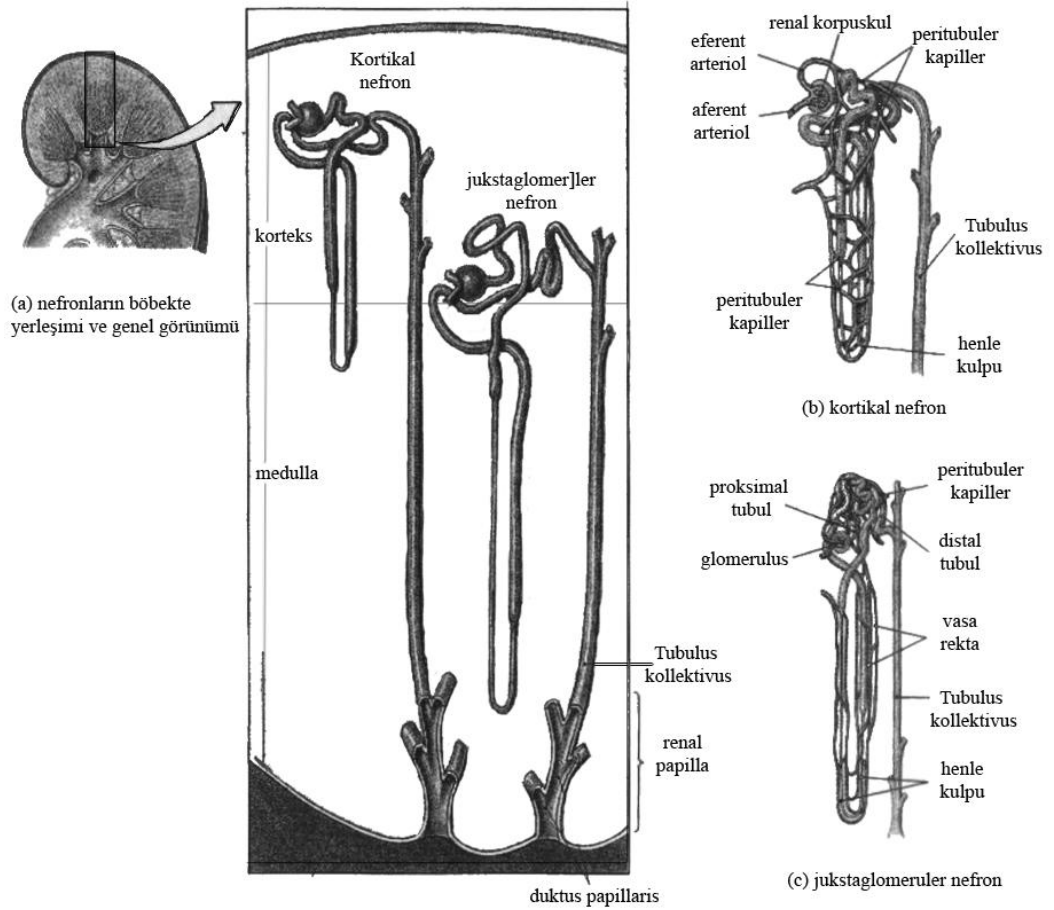
Kalbin merkezindeki fibröz bölge, fibröz kalp iskeleti hücrelerinin kökenini aldığı ve yerleştiği bir alan olmasının yanı sıra kapakçıkların da temelini oluşturur. Fibröz iskelet yoğun bağ dokusundan yapılmıştır. Başlıca bileşenleri; septum membranaseum, trigonum fibrozum ve annuli fibrozidir. Septum membranaseum, interventriküler septumun üst fibröz kısmıdır. Burada kollajen lifler birbirlerine koşut düzenlenmiştir. Kalbin tabanında atriumlar ile ventriküllerin arasında bulunan deliklerin ve damarların çıkış deliklerinin çevresinde bulunan fibröz dokudur. Annuli fibrosi ise fibröz iskeletin deliklerin ve damarların çevresini saran kısımdır. Burada kıkırdak doku adaları bulunur . Bu yapılar değişik yönlerde doğru giden kalın kollajen liflere eşlik eden yoğun bağ dokusundan oluşmaktadır. Bazı yerlerde fibröz kıkırdak nodülleri gözlemlenir. Kalp kapakçıkları her iki yüzde endotel katmanını içeren yoğun bağ dokusundan yapılmıştır. Buradaki bağ dokusu elastik ve kollajen lifler kapsar. Kapakçıkların tabanı fibröz iskeletin annuli fibrozuslarına bağlanmıştır [116-119].

2.11. Böbreğin Histolojisi

Böbrek ince fakat kollajen fibrillerden zengin olduğu için sağlam fibröz bir kapsül ile örtülmüştür. Kapsülde az sayıda elastik fibril bulunur. Yaşla birlikte kapsülün kalınlığı ve elastik fibrillerin sayısı artar. Kapsülün organdan kolayca soyulması arada septum olmadığını gösterir. Fibröz kapsül böbreğin hilus denilen iç bükey kısmından organın içine girer. Hilustan arteria renalis girer, vena renalis ve üreter çıkar. Üreterin üst ucu hilusu dolduran bir genişleme (pelvis renalis) gösterir. Bütün bu bağ doku kısımları intersitisyum olarak isimlendirilir. İç kısımda ise nefron ve toplayıcı borucukların olduğu bölge paranşim olarak adlandırılır. Parankim üniteleri ve intersitisyum böbrekte kendine özgü bir yayılım gösterirler. Buna göre böbrekte iki bölge ayırt edilir. Bunlar korteks ve medulladır. Korteks içerdiği oluşumun iyi boyanması nedeniyle koyu, medulla ise içerdiği birbirine paralel borucuklar nedeniyle çizgili ve açık renkte boyanır. Korteks ve medulla arasındaki sınır iki elin parmakları birbirine geçmiş gibi

girintili çıkıntılıdır. Nefron ve toplayıcı borucuklar bölümlenmesi içinde yer alan üniteler şunlardır [120-124];

- Nefron
 - Korpuskulum renis (Malpigi cisimciği)
 - Tubulus proksimalis
 - Henle kulpu
 - Tubulus distalis
 - Tubulus konnektivus
- Toplayıcı borucuklar
 - Tubulus kollektivus
 - Duktus papillaris



Şekil 2.2. Nefron ve toplayıcı borucuklar (123)

2.11.1. Korpuskulum renis (malpigi cisimciği)

Nefronun başlangıç kısmı olan malpigi cisimciği kortekste bulunur. Her korpuskulum renis ortada yerleşik damar yumağı (glomerulus) ve çevrede bulunan membranöz yapıdan (bowman kapsülü) oluşur. Sayıları kedilerde 200-300 bin, insanda 1-4 milyon arasındadır. Arteria interlobularis korteks içine sağlı sollu dallanarak her biri afferent arteriolü yapar. Afferent arteriol özel arteriyel kılcala dönüşür ve kendi üzerine kıvrımlar oluşturarak glomerulus denilen yapıyı oluştururlar. Damar ağının devamında glomerulustan efferent arteriol adıyla Bowman kapsülünü terk ederek tubuluslar ve henle kulbuna doğru uzanır. Malpigi cisminde iki kutup vardır. Afferent arteriolun girip, efferent arteriolun çıktığı vasküler kutup (damar kutbu) ile proksimal tubul lümeni ve Bowman kapsül aralığının bağlandığı bölge idrar kutbu olarak adlandırılır [120-125].

Bowman kapsülü iki yapraklıdır. Glomerüle bakan visseral yaprak (glomerüler epitel), dış duvarı ise paryetal yapraktır (kapsüler epitel). Paryetal yaprak, retikülerfibrilleri içeren ince bir bazal laminaya oturmuş tek katlı yassı epitel hücrelerinden oluşur. İdrar kutbunda yassı epitelyum proksimal tubulus epiteline dönüşür. Visseral yaprak ise kalın bazal bir laminaya oturmuş podosit (episit) denilen hücrelerden oluşur. Podosit hücrelerin sitoplazmalarından radyal olarak uzanan primer uzantıların olması nedeniyle yıldız şeklindedir. Primer uzantılardan ayrılan çok sayıda sekonder uzantı (pedisel) arasında yarık şeklinde filtrasyon aralıkları bulunur [125].

2.11.2. Tubulus proksimalis

Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının devamı şeklinde (yassı epitel) idrar kutbundan başlar kübik epitel ile devam eder. Bu kısma boyun denilse de gerçek bir daralma yoktur. Nefronun en uzun, en kıvrımlı ve çapı en geniş kısmı pars kontortus (kontortus=kıvrımlı) ve pars rekta kısımları vardır. Pars kontortus böbreğin kapsüller yüzeyine doğru geniş bir ans yapar. Preparatlarda oblik ya da transvers kesitleri görülür. Ultrafiltratın reabsorbsiyonunun $\frac{3}{4}$ lük kısmını sağlayan bölümdür. Bunun duvarını oluşturan ve asit boyalarla koyu eosinofilik boyanan tek katlı tepesi kesik pramit ya da kübik hücrelerdir. Stoplazmada bol miktarda peroksizom ve lizozom bulunur.

Hücrelerin apikal yüzleri emilim yüzeyini arttırmak için mikrovillusludur. Bazallerinde ise bazal labirintler (membran katlantıları) vardır. Özellikle su, glikoz, küçük moleküllü proteinler ve bazı iyonların geri emilimini sağlar. Pars rekta ise başlangıç kısmı spiral daha sonra düz seyreden elektron mikroskobu incelemelerinde mikrovillusların daha kısa boylu ve az sayıda olduğu görülür. Bu bulgular pars rektanin transellüler transportta pars kontortus kadar katılmadığına işaret etmektedir. Pars rekta henle ansının inen kolunu oluşturur [120-125].

2.11.3. Henle kulpu (tubulus intermedius)

Proksimal ve distal tubuller arasında yer alan U harfi biçiminde tubuler bölümdür. İnen henle (proksimal tubulun pars rektası), ince kısım (henle ansı) ve çıkan henle (distal tubulun pars rektası) olarak üç kısımda incelenir. Böbreğin medulla kısmında bulunurlar. İnen henlenin duvarı tek katlı yassı hücrelerden oluşur. Bu hücrelerin membranı fazla miktarda su geçişi için elverişlidir. Çıkan henlenin ise çapı daha geniştir ve duvarı kübik epitel hücrelerinden oluşur. İnen

henlenin tersine su yerine suda eriyen maddeler (tuz, üre vb.) için geçirgendir [120-123].

2.11.4. Tubulus distalis

Çıkan henlenin devamı şeklinde kortekse girer, burada kıvrım oluşturarak (tubulus konkortus distalis) kendi malpigi cisimciğine yaklaşır, aferent arteriole dirseklendiği yerde yüksek prizmatik epitel hücreleri bir plak şeklinde makula densayı oluştururlar. Tubulus proksimalisten daha kısadır ve histolojik kesitlerde asit boyalar ile daha açık şekilde boyanır ve lümeni seyrek mikrovillustur. Tubulus distalisi oluşturan hücreler iyon geçişine elverişli bazal membran girintilerine ve mitokondriyumlara sahiptir. Distal tubul aynı zamanda tubuldeki idrara hidrojen ve amonyum iyonları salar. Bu etkinlik kandaki asit-baz dengesinin korunmasında önemlidir. Tubulus distalisler kısa bağlantı kolları (tubulus konnektivus) ile toplayıcı borucuklara bağlanır.

2.11.5. Toplayıcı tubuller

Tubulus kollektivus ve duktus papillaris olarak iki kısımda incelenir. Tubulus kollektivus, medullanın korteksine komşu olan medullar radyustan başlar. Başlangıçta basık prizmatik pelvis renalise doğru yüksek prizmatik hücreler vardır. Stoplazmaları az sayıda organel içerir ve elektron geçirgendir. Özellikle su reabsorbsiyonunda görevli yapıdır. Toplayıcı kanalların epiteli arka hipofiz tarafından salınan arginin, vazopressin ya da anti diüretik hormona (ADH) tepki verirler. Ark biçimli kolektör tubuller boşaltıcı duktus sisteminin başlangıcını oluşturur. Bunları düz seyirli kolektör tubuller izler. Böylece ark biçimli kolektör kanallar, tubulus konkortus distalisleri düz seyirli kolektör kanala bağlar. Duktus papillaris, tubulus kollektivusların birleşmesi ile şekillenir. Yüksek prizmatik epitel yapıda büyük geviş getirenlerde değişken epitel yapıdadır. Mikroviluslar çok kısa boylu ya da hiç olmadığından lümen düzgündür. Oluşan idrar duktus papilaristen kaliks renalise ve/veya pelvis renalise ve oradan ureterlerle idrar kesesine aktarılır [120-125].

2.12. Hipertansiyon ve Kalp

Hipertansiyon, miyokard enfarktüsü ve ani ölüm dahil olmak üzere semptomatik KAH riskini iki kattan fazla, konjestif kalp yetmezliği riskini ise üç kattan fazla artırmaktadır. Artmış yüklenmeye karşı LVH gelişmesi ve aterosklerozun artmış hızı HT' nin kalp üzerine etkilerini doğurmaktadır. Hipertansiyonda oluşan en sık kardiyak hasar LVH' dir. Sol ventrikülde gelişen hipertrofi geometrik yapısına göre "ekzantrik ve konsantrik" tanımlarıyla sınıflandırılmaktadır. Ekokardiyografi (EKO) ile sol ventrikülün artmış duvar kalınlığı veya kitle artışı (erkeklerde >125 g/m², kadınlarda >110 g/m²) objektif olarak saptanabilmektedir [126-130].

Sol atriyal (LA) dilatasyon ve LVH hipertansif hastalarda gözlenen en sık yapısal değişikliklerden olsa da bunlar semptomların sebebi değildir. Sol ventrikül diyastolik relaksasyon ve kompliyans bozukluğu en sık ve en erken görülen HT bağımlı kardiyak fonksiyon bozukluğudur. Kalp yetersizliği nedeniyle tedavi edilen hastaların yaklaşık % 40'ında diyastolik disfonksiyon (DD) olduğu daha

doğru bir terimle sistolik fonksiyonların korunmuş olduğu saptanmıştır [131-132]. Hipertansif hastalarda sol ventrikülün relaksasyonu ve kompliyansı azalmıştır. Bu iki özelliğin genellikle birlikte bozulması, pulmoner konjesyonla sonuçlanan artmış sol ventrikül diyastol sonu basıncı ve artmış sol atriyal ve pulmoner venöz basınca neden olur. Hipertansiyona bağlı gelişen iskemi ve vasküler önyük artışının da diyastolik fonksiyon bozukluğu oluşumuna katkısı unutulmaması gereken önemli bir noktadır [131].

Hipertansiyonun sol ventriküler genişleme ve KAH' yi indüklemesi sonucu sistolik fonksiyonlar da bozulabilmektedir. Bozulmuş sol ventrikül sistolik fonksiyonu, sol ventrikül EF'nin %40'tan az olması ile karakterize, kötü kardiyovasküler prognoz ve tüm nedenlere bağlı ölüm riskinde artış ile ilişkilidir. Sistolik fonksiyon bozukluğunun önlenmesinde en önemli nokta erken tanı ve tedavi ile kan basıncının etkin bir biçimde kontrol altına alınmasıdır. Renin-angiotensin-aldosteron sistemi blokerleri tedavide kullanılabilecek öncelikli ilaçlardır. Hipertansiyon KAH için en önemli risk faktörü olup koroner perfüzyonu azaltarak ve miyokardın kanlanma ihtiyacını artırarak dengeyi kolayca bozabilir. Hipertansiyonda büyük koroner arterlerin aterosklerotik daralmasının hızlanması, endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulması, koroner rezervin sınırlandırılması artmış KAH riskini beraberinde getirir. Hipertansif hastalarda koroner iskemi, miyokard enfarktüsü ve ani ölümler normotansiflere göre daha sık görülmektedir [133].

2.13. Hipertansiyon ve Böbrek

Hipertansif hastalarda renal fonksiyon bozukluğu hem yapısal hem de fonksiyonel olarak sıklıkla mevcuttur. İki klinikopatolojik çeşit tanımlanmıştır. Biri malign nefroskleroz olup malign HT ile birlikte. Fibrinoid nekroz ve myointimal hiperplazi ile karakterizedir [134-135]. Antihipertansif tedavideki gelişmeler nedeniyle malign nefroskleroz günümüzde seyrek olarak görülür. Diğer ise benign nefroskleroz olup histopatolojik olarak preglomerüler damar duvarlarının hyalinizasyonu ile birlikte mikrovasküler değişikliklerle, intimanın kalınlaşmasıyla ve interlobar ve arkuat arterlerin iç elastik laminalarının duplikasyonu ile birlikte. Bu değişiklikler glomerüler hasar, glomerüloskleroz, tübüler atrofi ve interstisyel fibroze götürebilmektedir. Hipertansif hastalarda albümin atılımındaki artışın intraglomerüler basınç artışı ve glomerüler bariyerdeki filtrasyon değişikliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir [136-139].

MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda toplam 35 adet dişi, genç, 250-300 g ağırlığında *Rattus norvegicus* Wistar albino türü sıçan kullanıldı. Denekler iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu olan birinci grupta 15, Hipertansif grubu oluşturan ikinci grupta ise 20 sıçan bulunmaktaydı.

- a) Kontrol grubu (K, n=15)
- b) Hipertansif grup (H, n=20)

Denekler Akdeniz Üniversitesi Deney Ünitesi laboratuvarında kafesler içerisinde (standart koşul :12 saat gün ışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, sabit ısı odalarda) bakıma alındılar.

Çalışmanın ilk on dört gününde sıçanlara, beslenmeleri için standart ticari sıçan yemi ve içme suyu olarak da çeşme suyu verildi. Bu on dört günlük süre içerisinde hayvanların normal günlük su tüketiminin takibi yapıldı. Hayvanlara beslenme ve su tüketimlerinde bir sınırlandırılma yapılmadı, sıçanların istedikleri kadar yem ve su tüketmelerine izin verildi. Böylece ne kadar su tükettikleri belirlendi. Sıçanların ağırlık değişimleri ise elektronik tartı ile çalışma başlangıcından itibaren on günlük aralıklarla ölçüldü. Bu çalışmaların tüm prosedürleri ve çalışma protokolü Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönetmeliğine uygun olarak yapıldı.

3.2. Hipertansiyonun Oluşturulması

Çalışmanın on beşinci gününde hayvanların içme sularına L-NAME (C₇H₁₅N₅O₄·HCl) ilave edilmeye başlandı. Kullanılan L-NAME'nin dozu hayvanlardaki içme suyu tüketimi belirlenerek hesaplandı ve böylece amaçlanan dozun alınması sağlandı. L-NAME'li içme suyu 2 günde bir tazelenildi . Bu şekilde hipertansif gruptaki sıçanlar 6 hafta boyunca artan ağırlıkları göz önüne alınarak günlük 25 mg/kg dozunda L-NAME aldılar.

3.3. Kan Basıncı Ölçümü

Deneydeki hayvanların kan basınçları kuyruk arterlerinden tail-cuff yöntemiyle ölçüldü. Hayvanların kuyruğuna takılan halka şeklindeki basınç probuyla sinyaller alınıp MP 150 veri toplama sistemi (BIOPAC Systems, CA-USA) ve MAY-BPHR 9610-PC (Commat Ltd, Ankara) ünitesi aracılığıyla bilgisayara aktarıldı. Yapılan bu ölçümler Acknowledge paket programıyla çizdirilen basınç traseleri üzerinden yapıldı. İki haftada bir yapılan ölçümlerle hayvanların deney sonuna kadar kan basıncı takibine devam edildi. Kuyruktaki arterlerden geçen kan akımının kısa bir süreliğine kesilmesi için, halka şeklindeki havayla şişirilebilen bir manşet (cuff) kullanıldı. İstenen basınç düzeyi oluşturulduktan

sonra şişirilen manşetin otomatik olarak yavaşça söndürülmesiyle kan akımının tekrar başlaması sağlandı. Böylece, halka şeklindeki basınç probuyla belirlenebilen pulsasyonun basınç değeri saptandı. Her sıçan için en az üç basınç trasesi periyodik ölçümler sırasında kaydedildi. Belirlenen değerlerin ortalaması alınarak o günkü kan basıncı değerleri hesaplandı.

3.4. Deneyin Sonlandırılması

Altı haftalık deney süresinin sonunda tüm hayvanlar etik kurallara göre uyutularak sakrifiye edildi, kalp ve böbrek doku örnekleri fizyolojik serum içerisine alınarak temizlendi. Daha sonra doku örnekleri immünohistokimyasal işlemler için % 10 luk formalin solüsyonuna, SDS – Page Western Blot işlemi için ise sıvı nitrojene alınarak -80 °C deki derin dondurucuya yerleştirildi.

3.5. Doku Temini ve Hazırlanması

Alınan kalp ve böbrek örnekleri Holland fiksatifinde (1000 ml distile suda % 40'lık 100 ml formalin + 5 ml glasiyel asetik asit + 40 gr pikrik asit + 2,5 gr bakır asetat) 4-12 saat tespit edildi. Daha sonra 6-7 saat musluk suyunda yıkanan dokular sıra ile %70, %80, %90 ve %100'lük alkol serilerinde 24'er saat tutularak dehidrasyon işleminden geçirildi. Ksilol içinde 3 defa 2-3'şer dakika bekletilerek şeffaflaştırıldı. 58°C'ye ayarlı etüvde dokular 3 defa 1'er saatlik parafin banyosunda tutulduktan sonra etüv dışında temiz erimiş parafinle bloklandı. Parafin bloklardan alınan 5 mikrometre kalınlığındaki kesitlere rutin ışık mikroskopik HE (Hematoksilen- eozin boyaması için) ve immünohistokimyasal teknikler uygulandı.

3.6. İmmünohistokimyasal Protokol

Polilizin ile kaplı lamlara alınan 5 mikrometre kalınlığındaki parafin kesitler 1 gece boyunca 56°C'ye ayarlanmış etüvde tutuldu. Deparafinizasyon için 3 defa 10'ar dakika ksilolden geçirildi. Daha sonra derecesi giderek azalan alkol serilerinin her birinde 5'er dakika (%100, %90, %80, %70) bekletildi. Distile suda 5 dakika çalkalandı. Dokudaki antijenik maskelenmenin ortadan kaldırılması için kesitler, 200 ml sitrat tamponu (pH:6.0; 900 ml distile suda 2,1 gr sitrik asit) içine alındı ve mikrodalga fırında (931 watt) iki defa 5'er dakika tutuldu. Bu işlemten sonra sitrik asit solüsyonu içerisinde 20 dakika boyunca oda ısısında bekletildi ve dokuların çevresi hidrofobik kalemle çizildikten sonra 3 defa 5'er dakika fosfat tamponlu tuz çözeltisinden (PBS; pH: 7.2-7.4) geçirildi. Bir sonraki basamakta dokulardaki hidrojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için kesitler 30 dakika boyunca hidrojen peroksit solüsyonu (13,5 ml metanol içerisinde 1,5 ml H₂O₂) ile muamele edildi. Kesitler 3 defa 5'er dakika PBS'te yıkandıktan sonra dokulardaki özgül olmayan antikor bağlanmasını önlemek amacıyla oda sıcaklığında bloklama serumu (Ultra UV Block, LabVision Corporation TA-125UB) ile 5 dakika muamele edildi. Hemen sonrasında, serumun fazlası alınarak primer antikorlarla oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi. Kontrol kesitlerine uygun serum ya da izotip IgG uygulandı. Primer antikorlar, apelin reseptörü [BIOSS, kat no: bs-2430] ve Apelin [NOVUS, kat no: NBP1-07130] için sırasıyla, 1:200 ve 1:250 oranında dilüe edilmiş olarak uygulandı. Kesitlere inkübasyondan sonra, 3 defa 5'er dakika PBS ile yıkama işlemi yapıldı. Daha

sonra sırasıyla 20 dakika biyotinli sekonder antikor (VECTOR, BA1000) ve 20 dakika streptavidin-peroksidaz kompleksi (DAKO, LSAB-2 system HRP code no:K0609) ile inkübe edildi. Her iki uygulama sonrasında da PBS ile 3 defa 5'er dakika yıkama yapıldı. Ardından sinyali geliştirmek için dokular amino etil karbozol (AEC) kromojeni (Lab Vision Corporation, TA-125-UD) ile ortalama 3-5 dakika muamele edildi. Daha sonra kesitler distile suya alındı ve hematoksilin ile zıt boyama yapıldı. Distile suda çalkalandıktan sonra 1-2 dakika akar musluk suyunda yıkandı. Kaiser's glycerol gelatine (MERCK, OB 514196, Darmstadt, Germany) marka kapatma solüsyonu ile kapatılan kesitler Axioplan mikroskopunda (Zeiss, Almanya) incelendi ve fotoğraflandırıldı.

3.7. SDS - Poliakrilamid Jel Elektrofrez (PAGE) ve Western Blot Metodu

Kontrol ve hipertansif oluşturulmuş sıçanlara ait böbrek ve kalp doku örnekleri, 0.2 gr dokuya 600 ml "lysis buffer" ve 10 ml proteaz inhibitör kokteyli (Boehringer) olacak şekilde inkübe edilerek homojenize edildi. Numuneler, 15000 g'de, +4 °C'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısımları -20°C'de saklanmak üzere hazırlandı. Numunelerin protein konsantrasyonlarını belirlemek için BCA (Bicinchoninic Acid) Assay Kit (Sigma Aldrich, Kat No B9643) kullanıldı. Her numunede var olan protein miktarı, standartlarla karşılaştırılarak tespit edildi. Jele yüklenen numunelerin her birinin eşit protein miktarı taşınması sağlanacak şekilde hesaplandı. Elektrofrezden önce numuneler 5 dakika 100°C'de suda kaynatıldı. Örneklerin hedef proteinlerinin moleküler ağırlıklarına uygun olarak, apelin reseptörü için % 10'luk, apelin için %18'lik poliakrilamid jeller hazırlandı. BCA testine göre yapılmış protein konsantrasyonu hesaplamaları baz alınarak her bir antikor için yüklenecek protein konsantrasyonu belirlendi. Apelin ve apelin reseptörü için 100 mg protein yüklendi. Her kuyucuğa 20 mikrolitre numune, protein miktarları eşit olacak şekilde yüklenerek Mini protean sistem III (Biorad) tankının içine yerleştirildi. Mini protean sistem III tankına "yürütme solüsyonu" eklenerek tank güç kaynağına bağlandı. Proteinler güç kaynağı aracılığı ile 80 Volt, 30 Miliamperde 90-100 dakika elektrofrez edildi. Bu sırada, PVDF membran (Biorad), üstte ve altta 3'er adet filtre kağıdı olacak şekilde sandviç biçiminde hazırlandı. Jelde yürütülen proteinler, hazırlanan sandviçte PVDF membran üzerine alınarak tekrar mini protean III sistemindeki tank blot içerisine alındı. Mini protean III tankına "transfer solüsyonu" eklenerek +4 °C'de gece boyu proteinlerin membrana transfer olması sağlandı. Proteinlerin PVDF membrana transferinden sonra, membran 1 saat süre ile oda ısısında pH'sı 7.2-7.4 olan 0.14 mol/l tris tuz solüsyonu (TBS) ile hazırlanan ve ek olarak % 0.1 Tween-20 (Sigma) ilave edilen (TBS-T), %5 lik yağsız kuru süt tozu (Biorad) ile blokladı. Membranlar, Apelin reseptörü [BIOSS, kat no: bs-2430] ve Apelin [NOVUS, kat no: NBP1-07130] için sırasıyla, 1:1000 ve 1:100 oranında bloklama solüsyonu ile dilue edilmiş antikorlarla gece boyu, +40C'de, karıştırıcı üzerinde inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında TBS-T ile 1 saat boyunca 5'er dakikada bir TBS-T solüsyonu yenilenerek, yıkama yapıldı. Membranlar, 1:5000 oranında bloklama solüsyonu ile dilue edilmiş, peroksidazla işaretlenmiş anti-fare IgG ve peroksidazla işaretlenmiş anti-tavşan IgG (Vector, BA1000) sekonder antikorlarla oda sıcaklığında karıştırıcı üzerinde 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında TBS-T ile 30 dakika boyunca 5'er dakikada bir TBS-T solüsyonu yenilenerek yıkama yapıldı. Membranlar SuperSignal Chemiluminisans (CL)-HRP substrat

sistemi (Pierce) ile 5 dakika inkübe edildikten sonra karanlık oda içerisinde hiperfilme (Amersham Pharmacia 46 Biotech) aktarıldı. Film görüntüleme amacıyla developer ve fiksatiften geçirildi ve distile su ile yıkanarak kurutuldu. İnternal kontrol olarak, fare monoklonal Beta-aktin antikoru [Abcam, Kat No Ab6276] kullanıldı. Western blot sonuçlarının kantitatif değerlendirmelerini yapmak amacıyla DigiDoc 1000 programı kullanıldı.

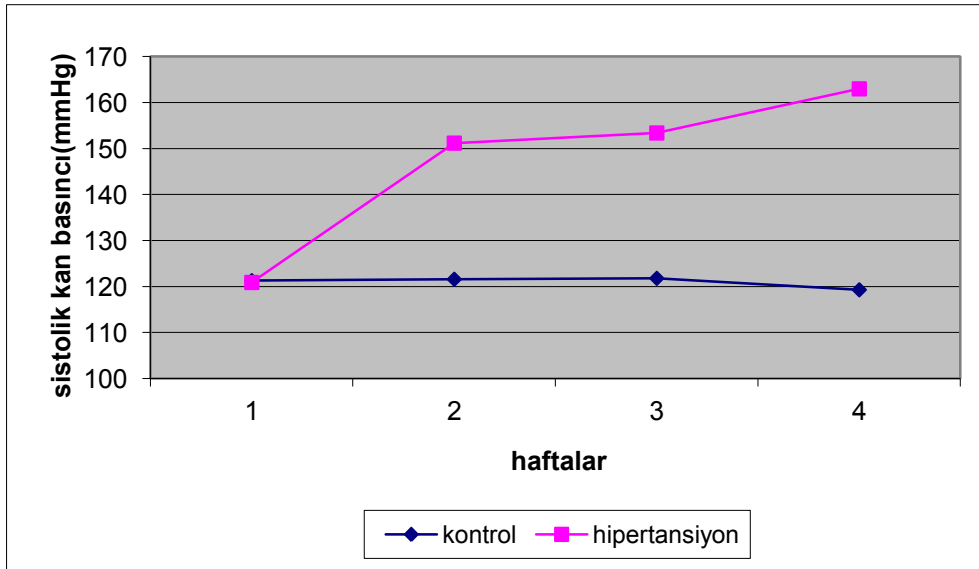
BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı

Kontrol grubunun vücut ağırlıkları deney sonunda ortalama $238 \pm 6,54$ g, hipertansif grubun ise $242,9 \pm 9,64$ g olarak bulundu. Vücut ağırlıkları yönünden gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

4.2. Kan Basıncı

6 haftalık deney süreci boyunca 2 haftalık aralıklarla toplam 4 kez ölçülen sistolik kan basıncı değerleri Şekil 1’de gösterilmiştir. Bazal kan basıncı değerleri gruplar arasında farklı değildi. Hipertansif gruptaki değerler 2. haftadan itibaren kontrol grubuna göre yüksekti. Ölçümlerin istatistiksel analizinde iki ortalama arasındaki farkın anlamlılık testi uygulanmıştır. Kontrol grubu ve hipertansif grubun birinci ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlılık bulunmazken ($p=8.99$), ikinci , üçüncü ve dördüncü ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardır. [sırasıyla ($p<0.05$) , ($p<0.05$), ($p<0.05$)] (Şekil 4.2.)

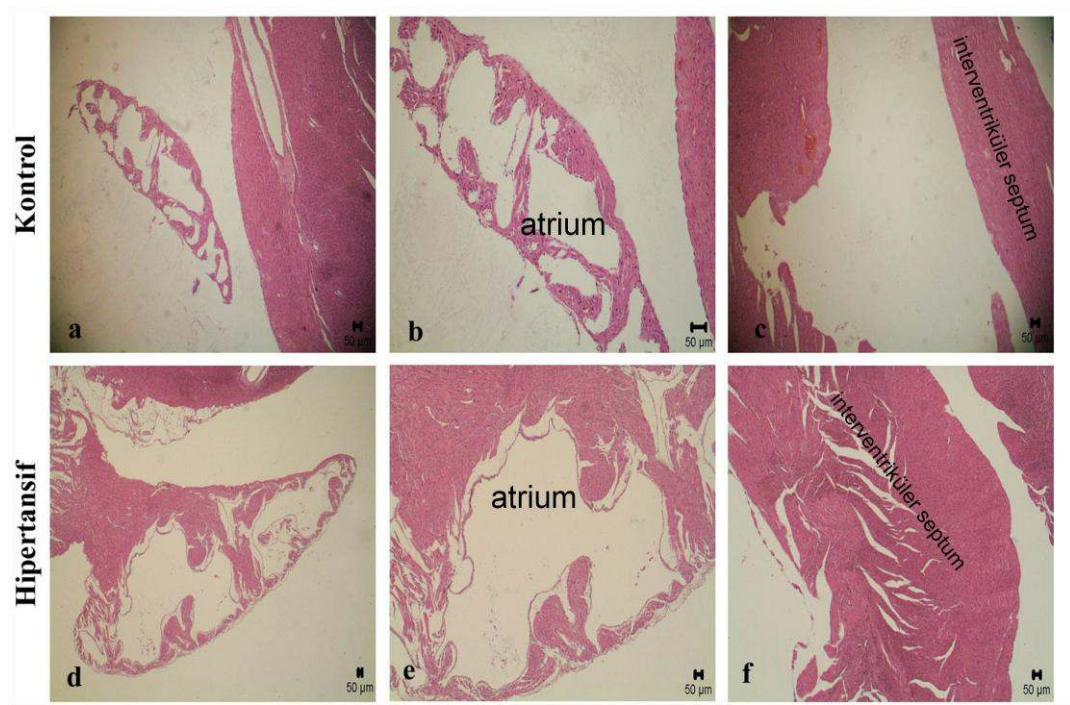


Şekil 4.2. Deney gruplarındaki sistolik kan basıncı değerleri (mmHg)

4.3.Hematoksilen-Eozin Bulguları

Hematoksilen-Eozin boyama tekniği uygulanan kontrol ve hipertansif kalp dokusu örnekleri ışık mikroskopik olarak incelendi. Hematoksilen-Eozin boyamasından sonra kontrol grubuna ve hipertansif gruba ait atriumlarda morfolojik olarak farklılıklar gözlemlendi. Hipertansif grubun atriumlarında kontrol grubuna göre daha geniş boşluklar olduğu tespit edildi (Şekil 4.3.1a-1d,1b-1e). Hipertansif gruba ait interventriküler septumda ise kontrol grubundan farklı olarak yer yer dokuda parçalanmalar görüldü (Şekil 4.3.1c-1f).

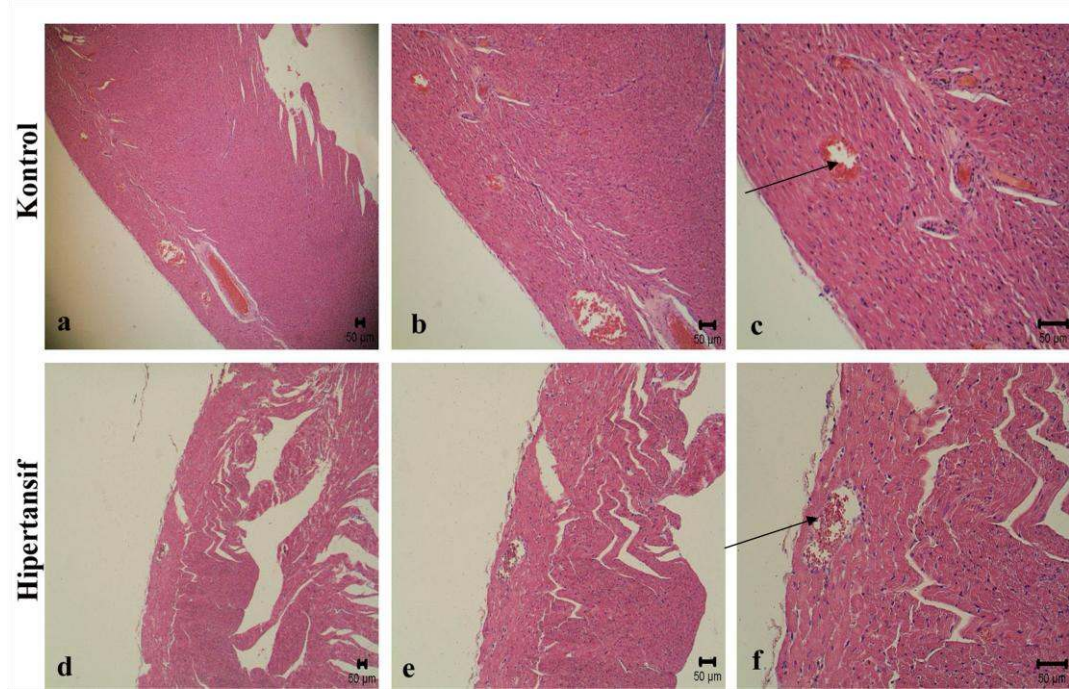
Hematoksilen- Eozin ile Boyanmış Atrium ve Septum interventrikülare



Şekil 4.3.1a-f Kontrol ve hipertansif kalpte atrium ve septum interventrikülarenin Hematoksilen- Eozin boyanması. a)Kontrol grubu- atrium büyütme: 5 X b) Kontrol grubu- atrium -büyütme : 10 X c) Kontrol grubu -septum interventriküler büyütme 5 X d)Hipertansif grup -atrium büyütme: 2.5X e) Hipertansif grup -atrium büyütme : 5 X f) Hipertansif grup- interventriküler septum –büyütme: 5 X

Hematoksilen- Eozin ile Boyanmış Koroner Arterler

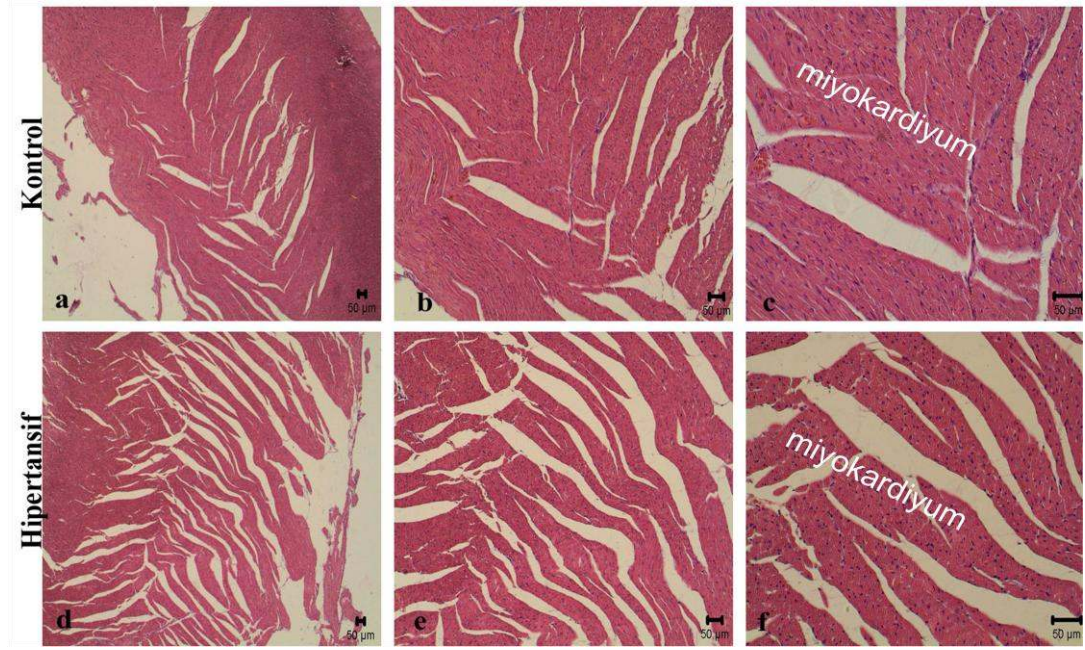
Kontrol grubuna ve hipertansif gruba ait koroner arterlere morfolojik olarak bakıldığında hipertansif gruptaki koroner arter genişliğinin daha fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 4.3.2a-f).



Şekil 4.3.2a-f Kontrol ve hipertansif kalpte koroner arterlerin Hematoksilen-Eozin boyanması. a)Kontrol grubu -koroner arter büyütme: 10 X b) Kontrol grubu- koroner arter -büyütme : 20 X c) Kontrol grubu -koroner arter büyütme 40 X koroner arter (ok işareti) d)Hipertansif grup -koroner arter büyütme: 10 X e) Hipertansif grup -koroner arter büyütme : 20 X f) Hipertansif grup -koroner arter-büyütme 40 X koroner arter (ok işareti)

Hematoksilen- Eozin ile Boyanmış Miyokardium

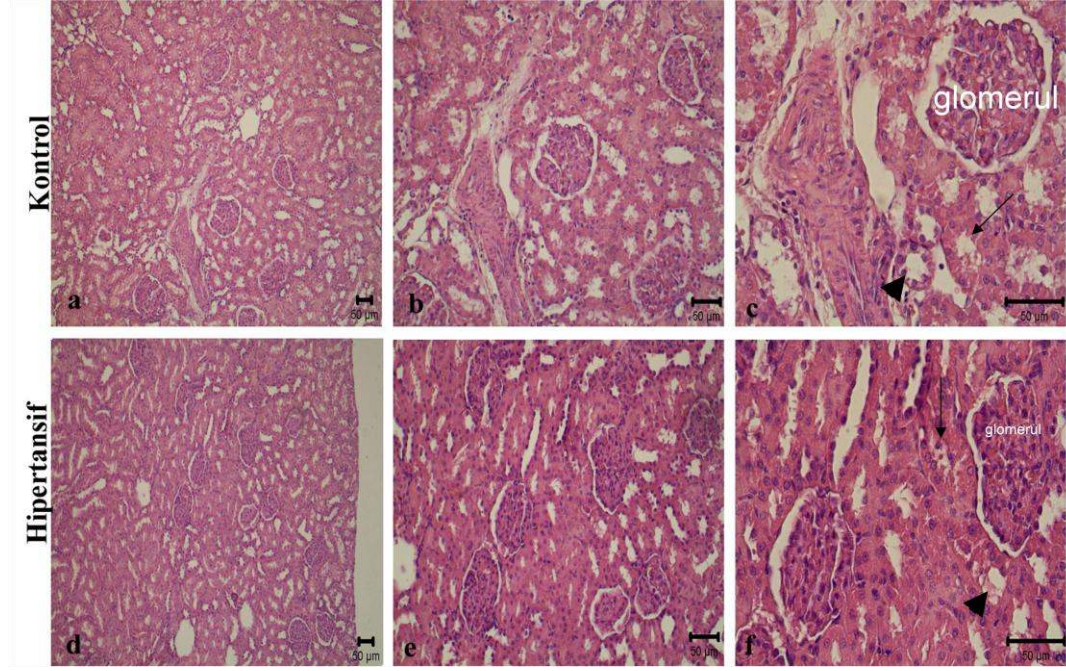
Kontrol grubuna ve hipertansif gruba ait miyokardium tabakasına bakıldığında morfolojik olarak hipertansif gruba ait miyokardiumda daha fazla parçalanmaların olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.3.3a-f).



Şekil 4.3.3a-f Kontrol ve hipertansif grup kalpte miyokardiyumun Hematoksilen Eozin boyanması. a) Kontrol grubu miyokardium büyütme: 10 X b) Kontrol grubu miyokardium büyütme : 20 X c) Kontrol grubu miyokardium büyütme 40 X d) Hipertansif grup miyokardium büyütme: 10 X e) Hipertansif grup miyokardium büyütme : 20 X f) Hipertansif grup miyokardium büyütme 40 X

Hematoksilen- Eozin ile Boyanmış Korteks Renalis

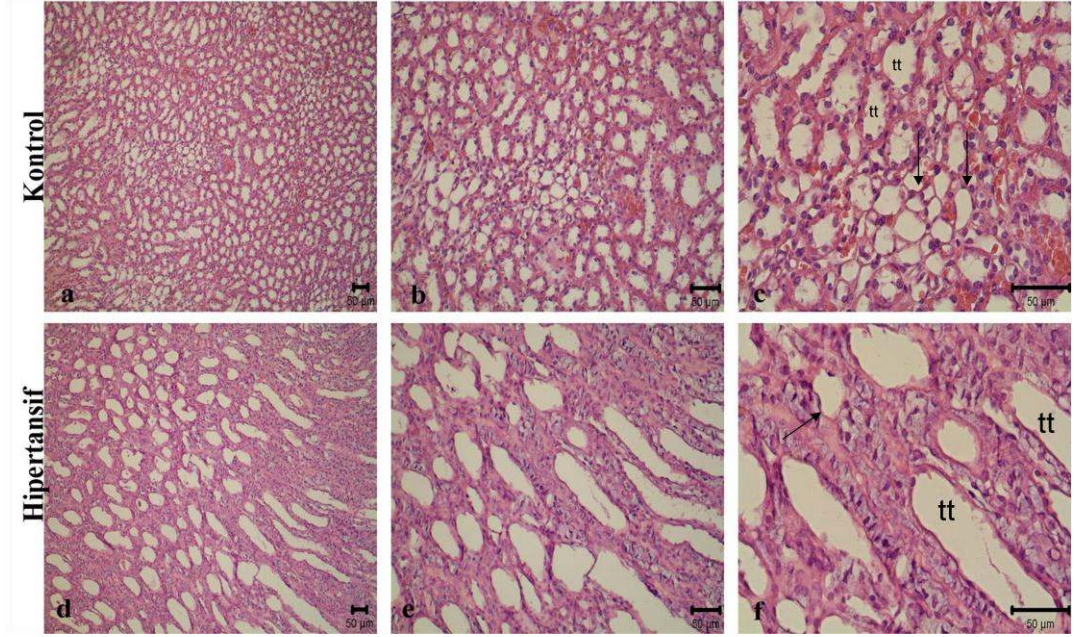
Kontrol grubuna ve hipertansif gruba ait böbrek kortekine bakıldığında morfolojik olarak farklılıklar gözlemlendi. Sadece hipertansif grupta glomerul aparatın hacminde boyuna daralma gözlemlendi (Şekil 4.3.4a-f). Bunun yanı sıra aynı şekilde proksimal ve distal tübüllerde de daralmalar tespit edildi (Şekil 4.3.4c, 4.3.4f).



Şekil 4.3.4a-f Kontrol ve hipertansif böbrekte korteks renalisin Hematoksilen Eozin boyanması. a)Kontrol grubu -kortex büyütme: 10 X b) Kontrol grubu -kortex -büyütme : 20 X c) Kontrol grubu -kortex büyütme 40 X distal tübül (ok başı) proksimal tübül (ok) d)Hipertansif grup -kortex büyütme: 10 X e) Hipertansif grup- kortex büyütme : 20 X f) Hipertansif grup- kortex -büyütme 40 X -distal tübül (ok başı) -proksimal tübül (ok)

Hematoksilen- Eozin ile Boyanmış Medulla Renalis

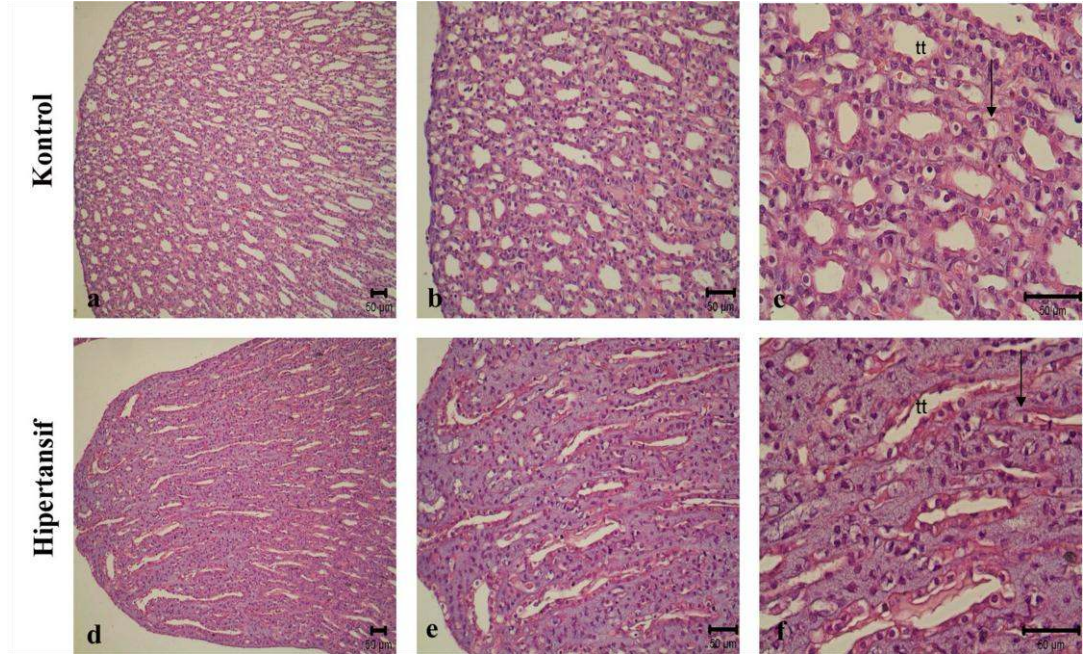
Kontrol grubuna ve hipertansif gruba ait böbrek medullasına bakıldığında morfolojik olarak hipertansif gruba ait toplayıcı tübüllerin ve henle kulbunun hacminde kontrol grubuna göre bir artış gözlemlendi (Şekil 4.3.5a-f).



Şekil 4.3.5a-f Kontrol ve hipertansif böbrekte medulla renalisin Hematoksilen Eozin boyanması. a) Kontrol grubu medulla büyütme: 10 X b) Kontrol grubu medulla -büyütme : 20 X c) Kontrol grubu medulla büyütme 40 X toplayıcı tübül (t.t.)henle kulbu (ok) d)Hipertansif grup medulla büyütme: 10 X e) Hipertansif grup medulla büyütme : 20 X f) Hipertansif grup medulla -büyütme 40 X toplayıcı tübül (t.t.) henle kulbu (ok)

Hematoksilen- Eozin ile Boyanmış Papilla Renalis

Hipertansif gruba ait toplayıcı tübüllerin ve henle kulbunun hacminde kontrol grubuna göre bir artış gözlemlendi (Şekil 4.3.6a-f).



Şekil 4.3.6a-f Kontrol ve hipertansif böbrekte papilla renalisin Hematoksilen Eozin boyanması a) Kontrol grubu papilla renalis büyütme: 10 X b) Kontrol grubu papilla renalis -büyütme : 20 X c) Kontrol grubu papilla renalis büyütme 40 X toplayıcı tübül (t.t.) henle kulbu (ok işareti) d) Hipertansif grup papilla renalis büyütme: 10 X e) Hipertansif grup papilla renalis büyütme : 20 X f) Hipertansif grup papilla renalis -büyütme 40 X toplayıcı tübül (t.t.) henle kulbu (ok işareti)

4.4.İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol ve hipertansif gruplara ait kalp ve böbrek dokularında apelin ve apelin reseptörünün immünoboyanma yoğunluklarının dağılımları semikantitatif olarak değerlendirildi (Tablo 4.4.1- 4.4.4.).

4.4.1.Kalpteki Apelin Ekspresyonu

Kontrol ve hipertansif gruplara ait kalp dokularında apelinin immünoboyanma yoğunluklarının dağılımları semikantitatif olarak değerlendirildi ve Tablo 4.4.1’de gösterildi.

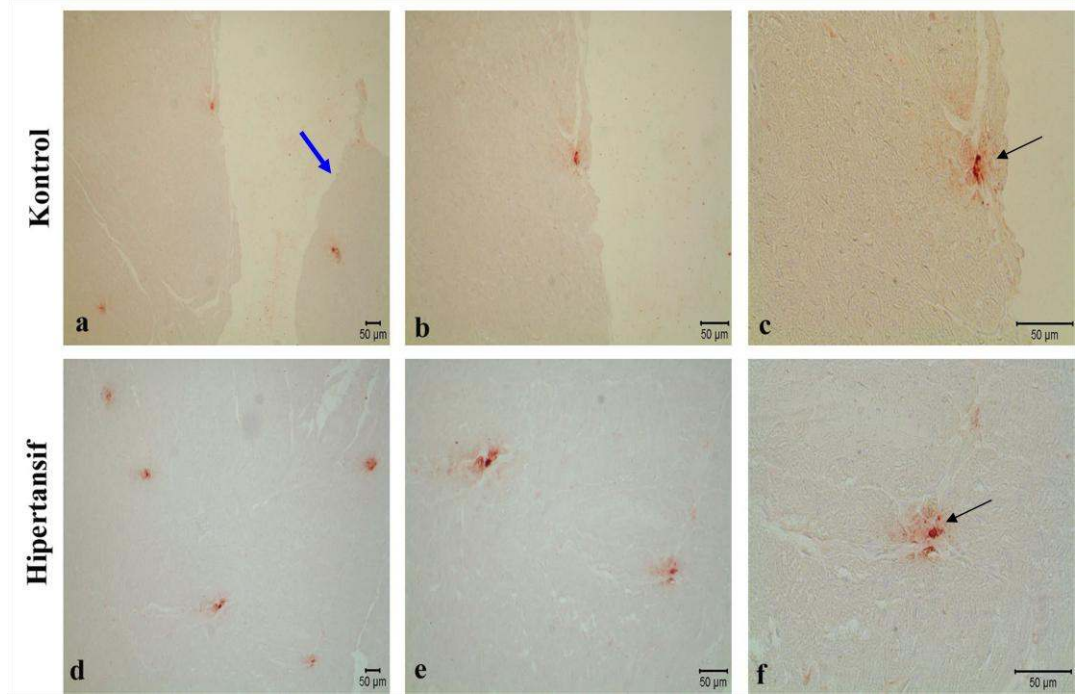
APELİN EKSPRESYONU

Hipertansif Grup	Kontrol Grubu	
ATRİUM		
Endotel	+	++
VENTRİKÜL		
Endokardium miyositleri	++	+++
Miyokardium miyositleri	++	+++
Epikardium miyositleri	++	+++
Endotel	++	+++

Tablo 4.4.1.: Kontrol ve hipertansif gruplarda kalpteki atrium ve ventriküler bölgelerde apelin ekspresyon yoğunluğunun semikantitatif değerlendirilmesi (0: negatif. +: pozitif , ++: yoğun pozitif , +++: çok yoğun pozitif)

4.4.1.1. Apelinin Endokardium Tabakasındaki İmmünoboyanma Sonuçları

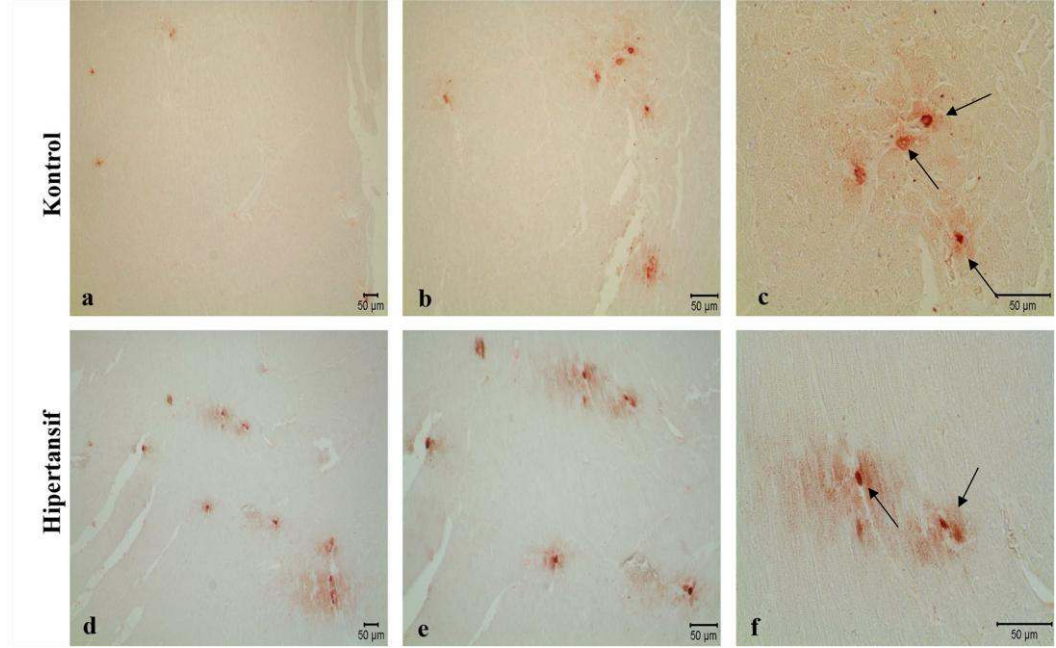
Endokardium miyositlerindeki apelin ekspresyonu kontrol grubunda yoğun pozitif, hipertansif grupta ise çok yoğun pozitif olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4.1) (Şekil 4.4.1.1a-f).



Şekil 4.4.1.1a-f Kontrol ve hipertansif kalplerde endokardiyumun apelin immünboyanması
a) Kontrol grubu endokardiyum büyütme: 10 X interventriküler septum (mavi ok)
b) Kontrol grubu endokardiyum - büyütme : 20 X c) Kontrol grubu endokardiyum büyütme 40 X endokardiyum miyositleri (siyah ok)
d) Hipertansif grup endokardiyum -büyütme: 10 X e) Hipertansif grup endokardiyum büyütme : 20 X f) Hipertansif grup endokardiyum -büyütme 40 X endokardiyum miyositleri (siyah ok)

4.4.1.2. Apelinin Miyokardium Tabakasındaki İmmünboyanma Sonuçları

Miyokardium miyositlerindeki apelin ekspresyonu kontrol grubunda yoğun pozitif, hipertansif grupta ise çok yoğun pozitif olarak gözlemlendi (Tablo 4.4.1)(Şekil 4.4.1.2a-f).



Şekil 4.4.1.2a-f Kontrol ve hipertansif kalplerde miyokardiyumun apelin immünboyanması. a) Kontrol grubu miyokardium büyütme: 10 X b) Kontrol grubu miyokardium -büyütme : 20 X c) Kontrol grubu miyokardium büyütme 40 X miyokardium miyositlerinde (ok işareti) d) Hipertansif grup miyokardium -büyütme: 10 X e) Hipertansif grup miyokardium büyütme : 20 X f) Hipertansif grup miyokardium -büyütme 40 X miyokardium miyositlerinde (ok işareti)

4.4.2.Kalpteki Apelin Reseptörünün Ekspresyonu

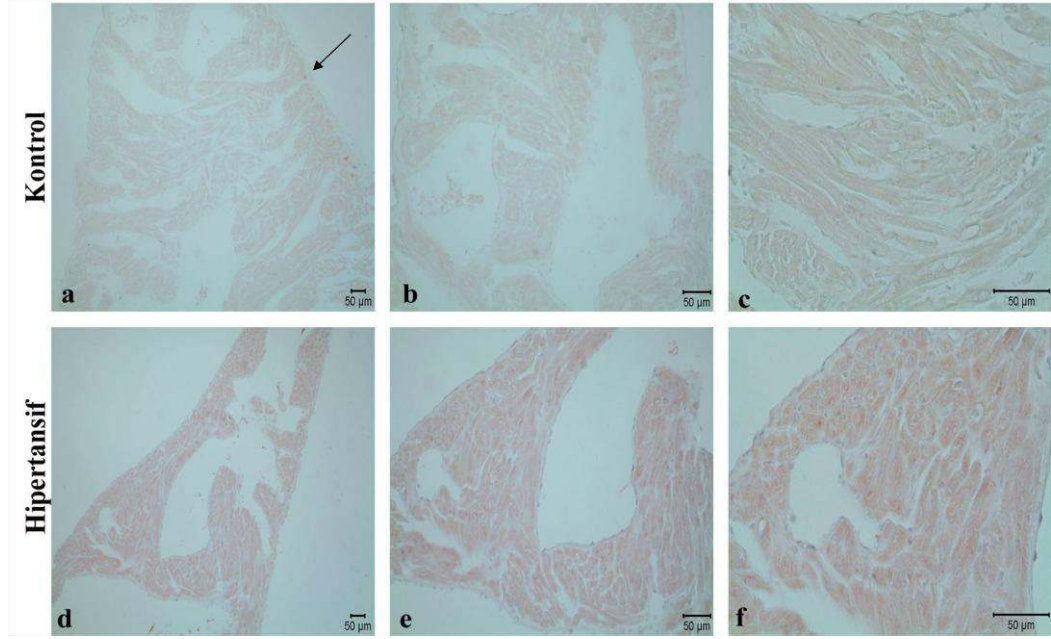
Kontrol ve hipertansif gruplara ait kalp dokularında apelin reseptörünün immünoboyanma yoğunluklarının dağılımları semikantitatif olarak değerlendirildi ve Tablo 4.4.2.'de gösterildi.

APELİN RESEPTÖRÜ (APJ)		
Grup	Kontrol Grubu	Hipertansif
ATRİYUM		
Endotel	+	++
VENTRİKÜL		
Endokardium miyositleri	++	+++
Miyokardium miyositleri	++	+++
Epikardium miyositleri	++	+++
Endotel	++	+++

Tablo 4.4.2.: Kontrol ve hipertansif gruplarda kalpteki atrium ve ventriküler bölgelerde apelin reseptörü (APJ) ekspresyon yoğunluğunun semikantitatif değerlendirilmesi (0: negatif. +: pozitif, ++: yoğun pozitif, +++: çok yoğun pozitif)

4.4.2.1. Apelin Reseptörünün Atriumdaki İmmünboyanma Sonuçları

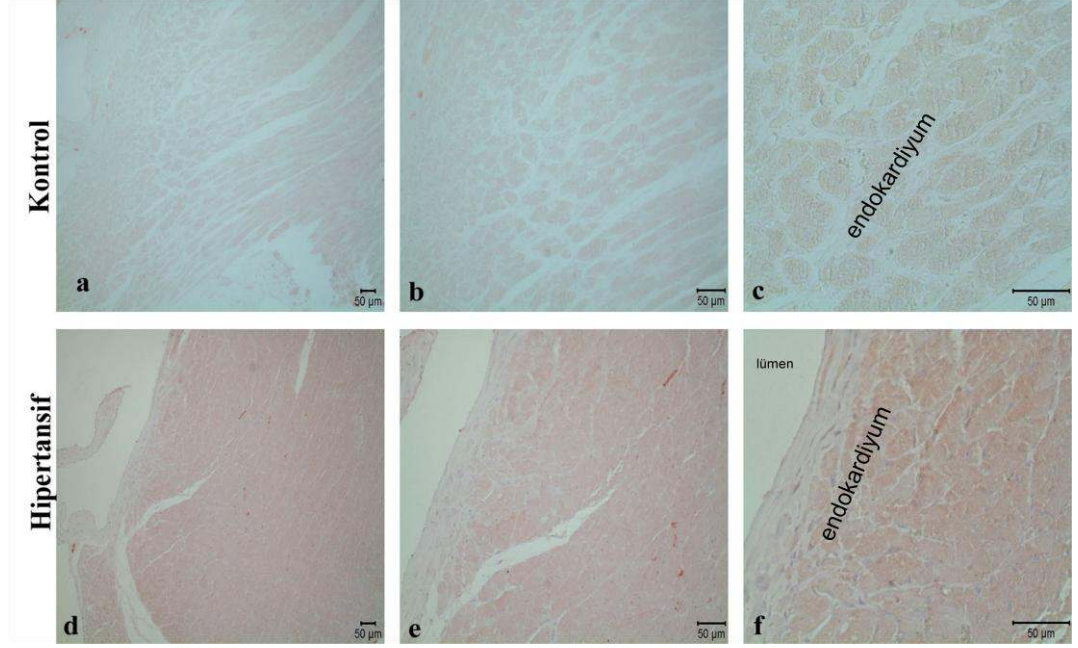
Atrium miyositlerindeki apelin reseptörünün ekspresyonu kontrol grubunda pozitif, hipertansif grupta ise yoğun pozitif şekilde gözlemlendi (Tablo 4.4.2)(Şekil 4.4.2.1.a-f).



Şekil 4.4.2.1a-f Kontrol ve hipertansif kalplerde atriumun apelin reseptörü immunboyanması. a)Kontrol grubu atrium büyütme: 10 X mast hücresi (ok işareti) b) Kontrol grubu atrium -büyütme : 20 X c) Kontrol grubu atrium büyütme 40 X d)Hipertansif grup atrium -büyütme: 10 X e) Hipertansif grup atrium büyütme : 20 X f) Hipertansif grup atrium -büyütme 40 X

4.4.2.2. Apelin Reseptörünün Endokardiyumdaki İmmünboyanma Sonuçları

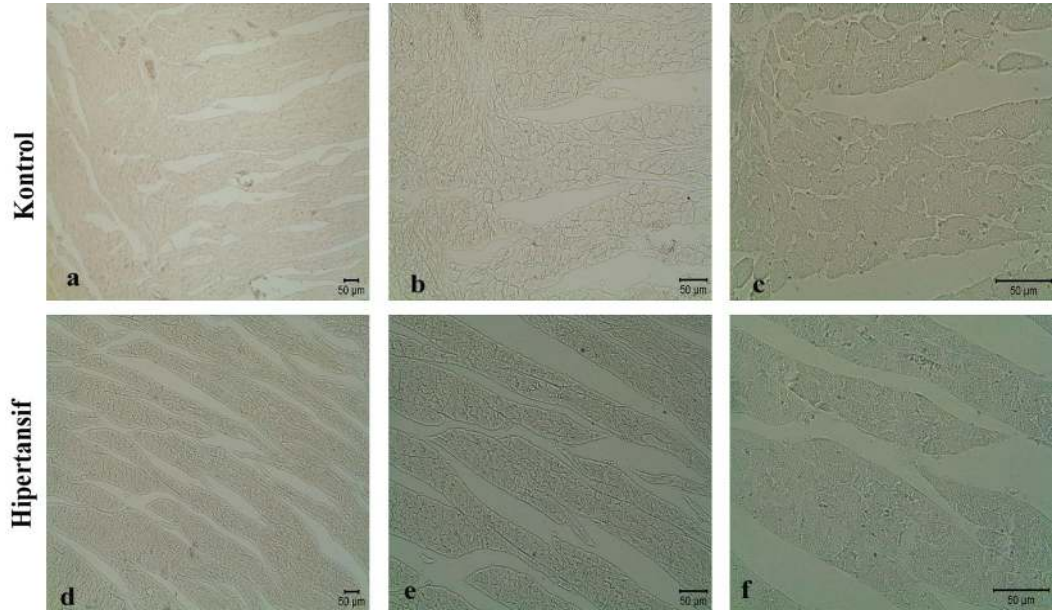
Endokardiyum miyositlerindeki apelin reseptörünün ekspresyonu kontrol grubunda yoğun, hipertansif grupta ise çok yoğun pozitif şekilde görülmüştür (Tablo 4.4.2)(Şekil 4.4.2.2a-f).



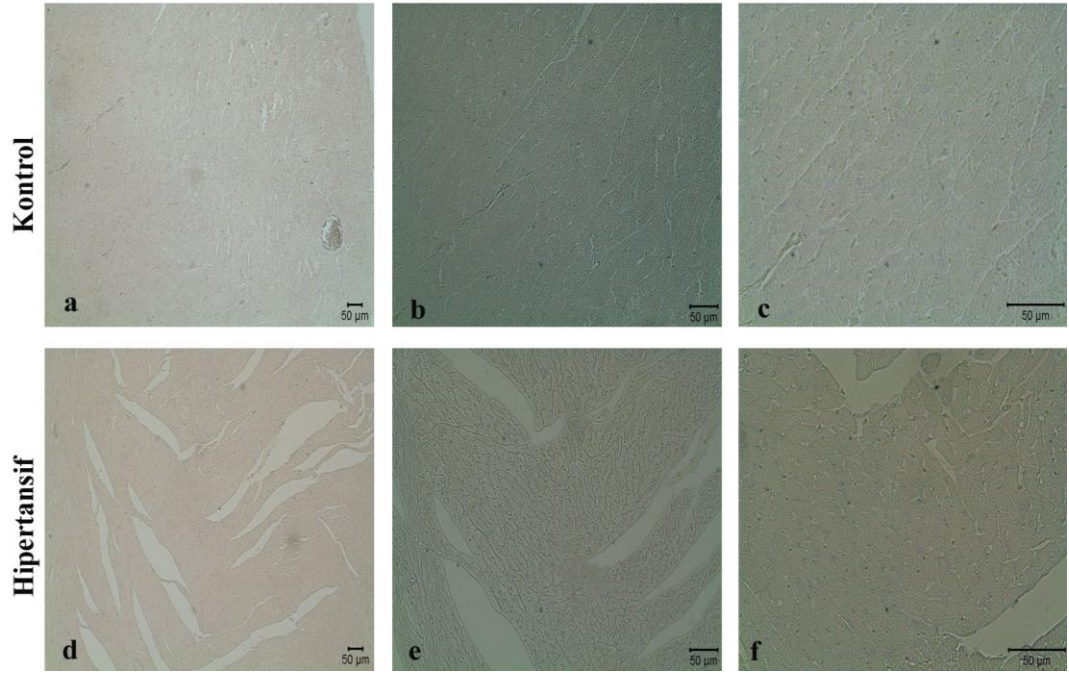
Şekil 4.4.2.2a-f Kontrol ve hipertansif kalplerde endokardiyumun apelin reseptörü immünoboyanması a)Kontrol grubu endokardiyum büyütme: 10 X b) Kontrol grubu endokardiyum -büyütme : 20 X c) Kontrol grubu endokardiyum büyütme 40 X d)Hipertansif grup endokardiyum -büyütme: 10 X e) Hipertansif grup endokardiyum büyütme : 20 X f) Hipertansif grup endokardiyum -büyütme 40 X

4.4.2.3. Negatif Kontrol Sonuçları

Yaptığımız negatif kontrol kesitlerde apelin (Şekil 4.4.2.3a-f) ve apelin reseptörü (Şekil 4.4.2.4a-f) immünreaksiyonu gözlenmedi. Elde edilen bu sonuçlar antikorlarımızın spesifik olarak çalıştığını göstermektedir.



Şekil 4.4.2.3.a-f Kontrol ve hipertansif kalpte miyokardiyumun apelin negatif kontrol immünboyanması. a) Kontrol grubu miyokardiyum-büyütme: 10 X b) Kontrol grubu miyokardiyum-büyütme :20 X c) Kontrol grubu miyokardiyum-büyütme 40 X d)Hipertansif grubu miyokardiyum-büyütme: 10 X e) Hipertansif grubu miyokardiyum-büyütme : 20 X f) Hipertansif grubu miyokardiyum-büyütme 40 X



Şekil 4.4.2.4.a-f Kontrol ve hipertansif kalpte miyokardiyumun apelin reseptörü negatif kontrol immünboyanması. a)Kontrol grubu miyokardiyum -büyütme: 10 X b) Kontrol grubu miyokardiyum -büyütme : 20 X c) Kontrol grubu miyokardiyum-büyütme 40 X d)Hipertansif grubu miyokardiyum-büyütme: 10 X e) Hipertansif grubu miyokardiyum-büyütme : 20 X f) Hipertansif grubu miyokardiyum-büyütme 40 X

4.4.3. Böbrekteki Apelin Ekspresyonu

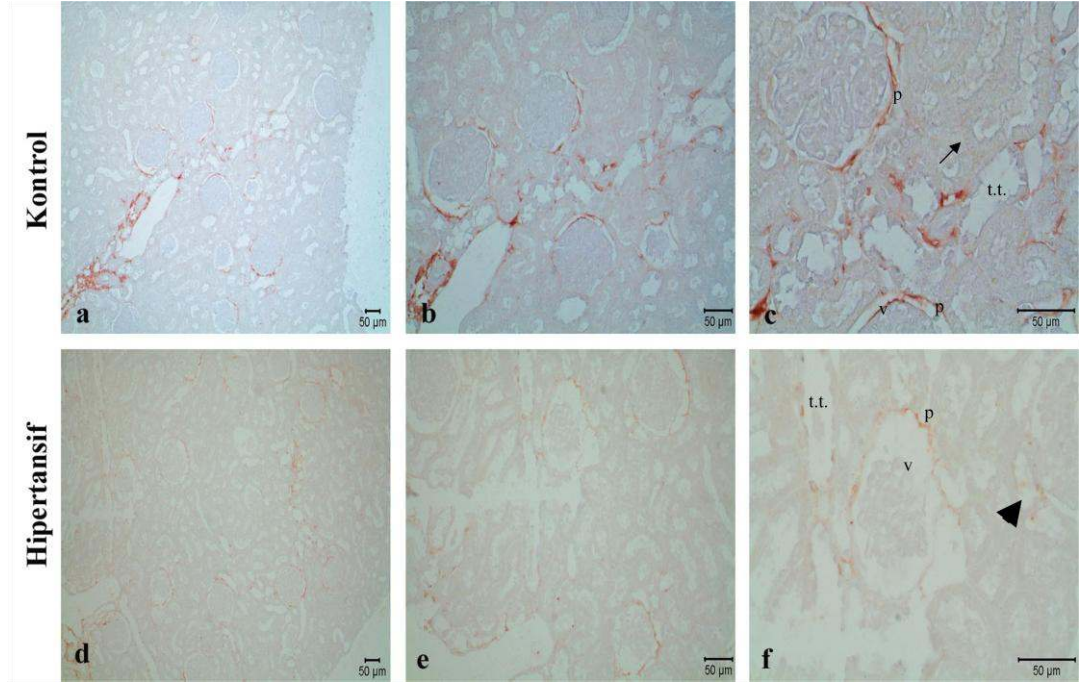
Kontrol ve hipertansif gruplara ait böbrek dokularında apelinin immünoboyanma yoğunluklarının dağılımları semikantitatif olarak değerlendirildi ve Tablo 4.4.3.'de gösterildi.

APELİN		
Grup	Kontrol Grubu	Hipertansif
BÖLGELER		
Distal tübül	+++	++
Proksimal tübül	—	—
Toplayıcı tübül	+++	++
Henle kulbu	+++	++
Glomerul pariyetal yaprak	+++	++
Glomerul visseral yaprak	+++	++
Endotel	+++	++
İntersial hücreler	—	—

Tablo 4.4.3.: Kontrol ve hipertansif gruplarda böbrekteki korteks ve medulla bölgelerindeki apelin ekspresyon yoğunluğunun semikantitatif değerlendirilmesi (0: negatif, +: pozitif, ++: yoğun pozitif, +++: çok yoğun pozitif)

4.4.3.1. Apelinin Böbrek Korteksindeki İmmünboyanma Sonuçları

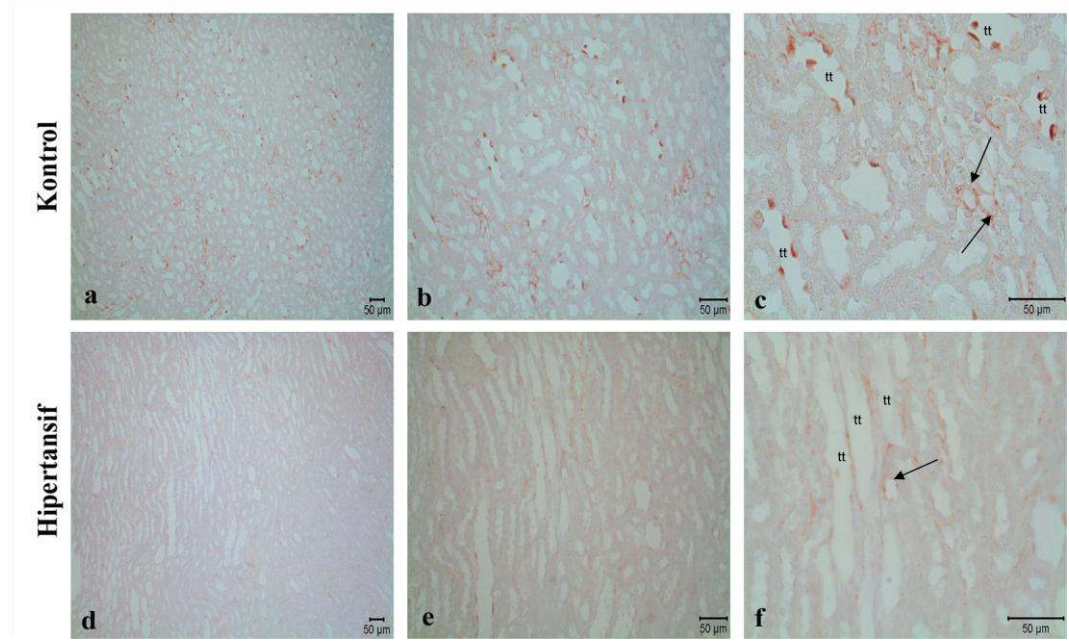
Kontrol grubundaki Bowman kapsülünün pariyetal yaprağındaki apelin ekspresyonunun, visseral yaprağa göre daha fazla olduğu görülmüştür. Aynı zamanda kapiller endotel hücrelerinde ve daha az olmak üzere tübül hücrelerinin bazolateral membranlarında da reaksiyon görülmüştür. Boyanmaların kontrol grubunda çok yoğun pozitif, hipertansif grupta ise yoğun pozitif olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.4.3.)(Şekil 4.4.3.1.a-f).



Şekil 4.4.3.1.a-f Kontrol ve hipertansif böbreklerde korteksin apelin immünboyanması. a)Kontrol grubu korteks-büyütme: 10 X b) Kontrol grubu korteks-büyütme : 20 X c) Kontrol grubu korteks-büyütme 40 X Glomerul pariyetal yaprak (p) Glomerul visseral yaprak (v) toplayıcı tübül (t.t.) bazolateral membran (siyah ok) d)Hipertansif grup korteks-büyütme: 10 X e) Hipertansif grup korteks-büyütme : 20 X f) Hipertansif grup korteks-büyütme 40 X Glomerul pariyetal yaprak (p) Glomerul visseral yaprak (v) toplayıcı tübül (t.t.)endotel hücreleri (ok başı)

4.4.3.2. Apelinin Böbrek Medullasındaki İmmünboyanma Sonuçları

Kontrol grubu böbreklerdeki toplayıcı tübül ve henle kulbunda çok yoğun pozitif reaksiyon gözlenirken, hipertansif grupta yoğun pozitif reaksiyon görüldü (Tablo 4.4.3.) (Şekil 4.4.3.2.a-f).



Şekil 4.4.3.2.a-f Kontrol ve hipertansif böbreklerde medullanın apelin immünboyanması
a) Kontrol grubu medulla-büyütme: 10 X b) Kontrol grubu medulla-büyütme : 20 X c) Kontrol grubu medulla-büyütme 40 X toplayıcı tübül (t.t.) henle kulbu (ok) d) Hipertansif grup medulla-büyütme: 10 X e) Hipertansif grup medulla-büyütme : 20 X f) Hipertansif grup medulla-büyütme :40 X toplayıcı tübül (t.t.)

4.4.4. Böbrekteki Apelin Reseptörünün Ekspresyonu

Kontrol ve hipertansif gruplara ait böbrek dokularındaki apelin reseptörünün immünboyanma yoğunluk dağılımı semikantitatif olarak değerlendirildi ve Tablo 4.4.4.'de gösterildi.

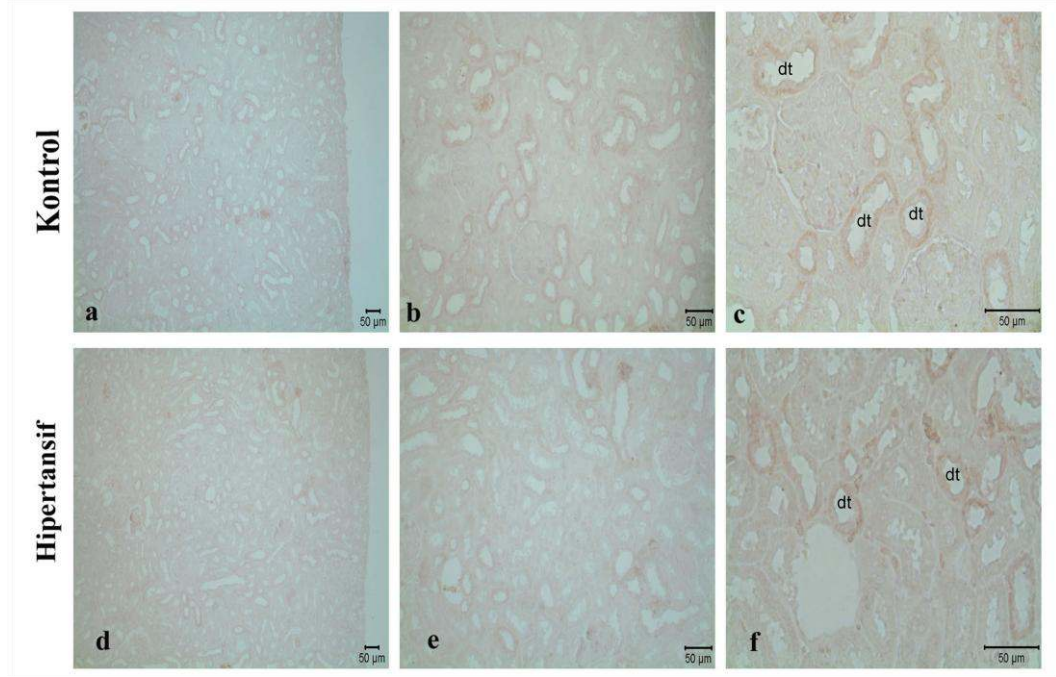
APELİN RESEPTÖRÜ (APJ)

Grup	Kontrol Grubu	Hipertansif
BÖLGELER		
Distal tübül	++	+
Proksimal tübül	–	–
Toplayıcı tübül	++	+
Henle kulbu	++	+
Glomerul pariyetal yaprak	–	–
Glomerul visseral yaprak	–	–
Endotel	++	+
İntersial hücreler	++	+

Tablo 4.4.4. Kontrol ve hipertansif gruplarda böbrek dokularında apelin reseptörü (APJ) ekspresyon yoğunluğunun semikantitatif değerlendirilmesi (0: negatif. +: pozitif, ++: yoğun pozitif, +++: çok yoğun pozitif)

4.4.4.1. Apelin Reseptörünün Böbrek Korteksindeki İmmünboyanma Sonuçları

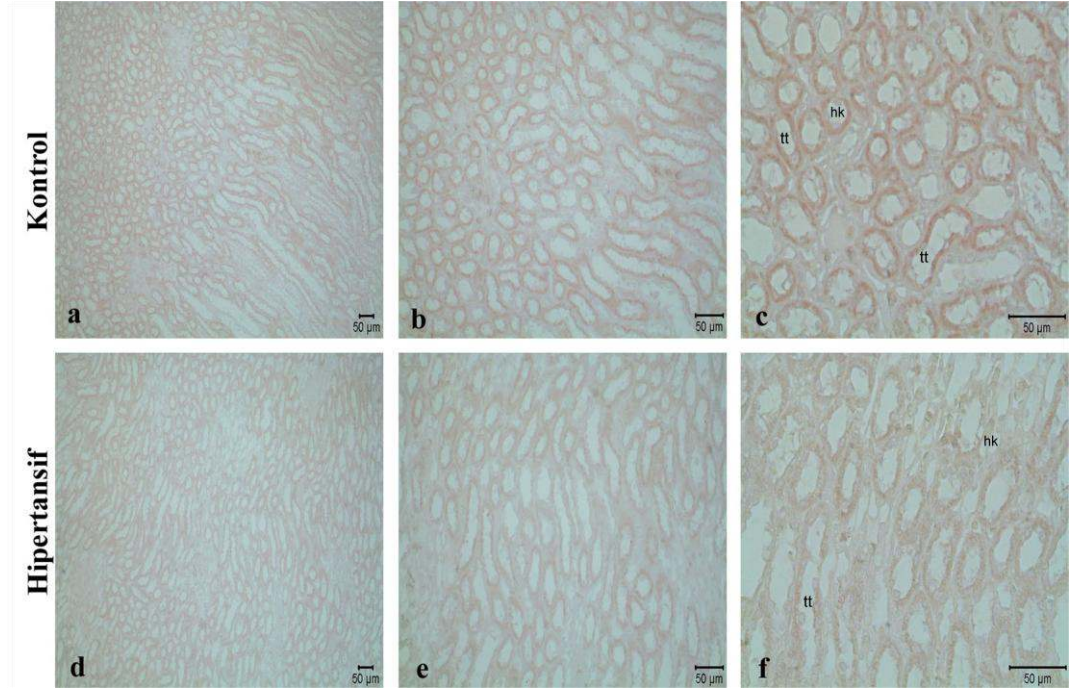
Kontrol grubuna ait böbreklerde distal tübüllerde yoğun pozitif bir reaksiyon gözlemlenirken hipertansif gruba ait distal tübüllerde ise pozitif reaksiyon gözlemlendi (Tablo 4.4.4.) (Şekil 4.4.4.1a-f).



Şekil 4.4.4.1a-f Kontrol ve hipertansif böbreklerde korteksin apelin reseptörü immünboyanması. a) Kontrol grubu korteks-büyütme: 10 X b) Kontrol grubu korteks-büyütme : 20 X c) Kontrol grubu korteks-büyütme 40 X distal tübül (dt) d) Hipertansif grup korteks-büyütme: 10 X e) Hipertansif grup korteks-büyütme : 20 X f) Hipertansif grup korteks-büyütme 40 X distal tübül (dt)

4.4.4.2. Apelin Reseptörünün Böbrek Medullasındaki İmmünboyanma Sonuçları

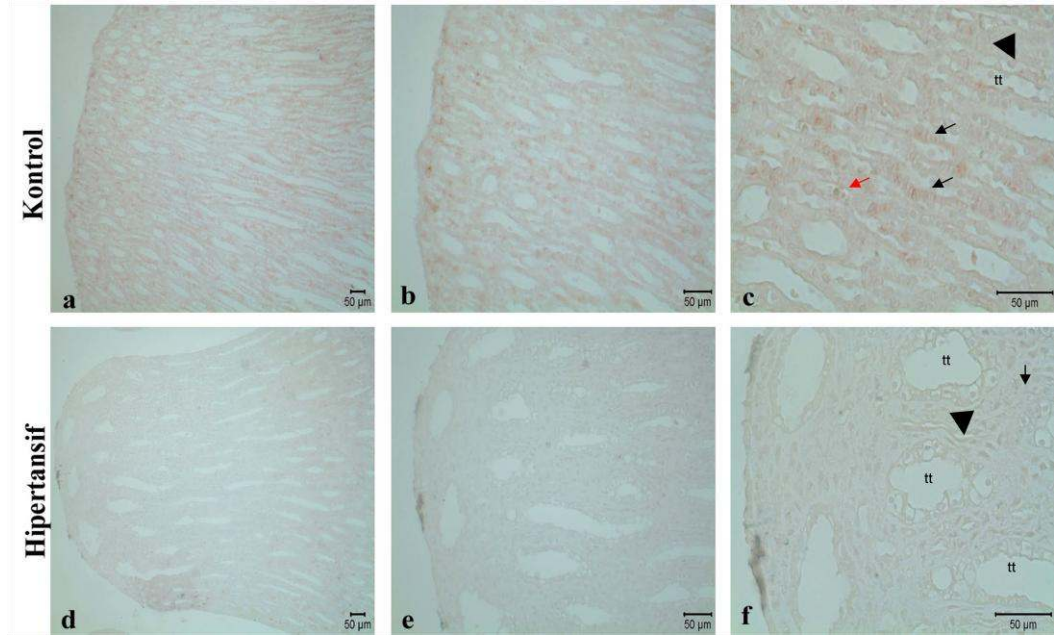
Kontrol grubuna ait böbrek medullasında distal tübüllerde yoğun pozitif bir reaksiyon gözlemlenirken hipertansif gruba ait distal tübüllerde ise pozitif reaksiyon gözlemlendi (Tablo 4.4.4.)(Şekil 4.4.4.2a-f).



Şekil 4.4.4.2a-f Kontrol ve hipertansif böbreklerde medullanın apelin reseptörü immünboyanması. a) Kontrol grubu medulla-büyütme: 10 X b) Kontrol grubu medulla-büyütme : 20 X c) Kontrol grubu medulla-büyütme 40 X toplayıcı tübül (t.t.) henle kulbu (hk) d) Hipertansif grup medulla-büyütme: 10 X e) Hipertansif grup medulla-büyütme : 20 X f) Hipertansif grup medulla-büyütme 40 X toplayıcı tübül (t.t.) henle kulbu (hk)

4.4.4.3. Apelin Reseptörünün Böbrek Papillasındaki İmmünboyanma Sonuçları

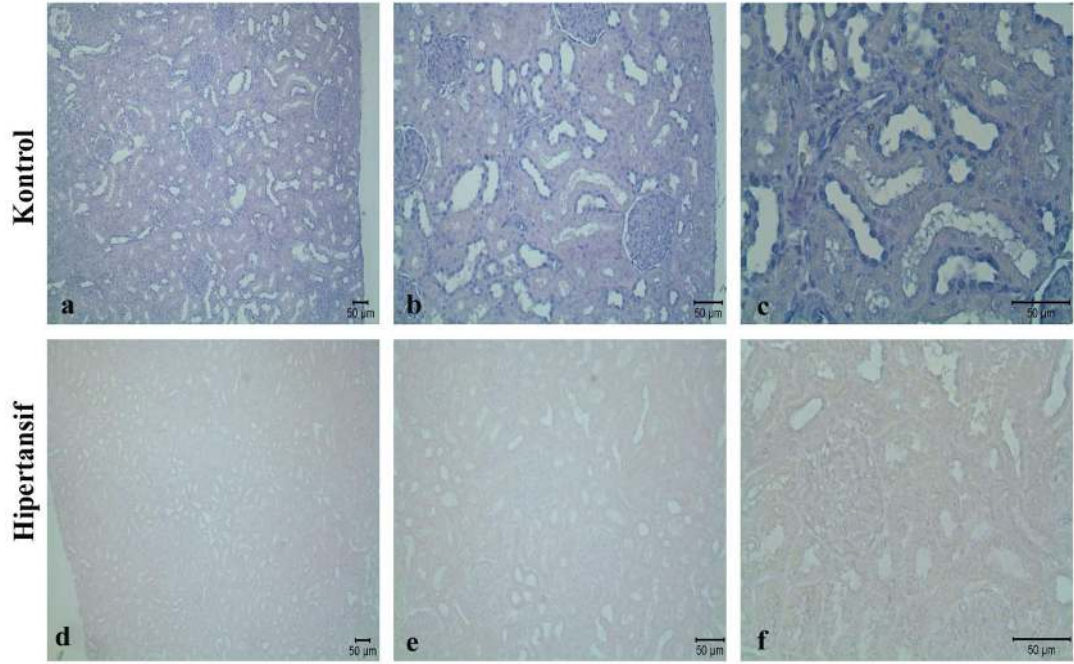
Kontrol grubundaki toplayıcı tübüllerde, henle kulplarında, intersisyal hücrelerde ve damar endotelinde pozitif reaksiyon gözlemlenirken aynı yapılar hipertansif grupta pozitif reaksiyon göstermiştir (Tablo 4.4.4.) (Şekil 4.4.4.3.a-f).



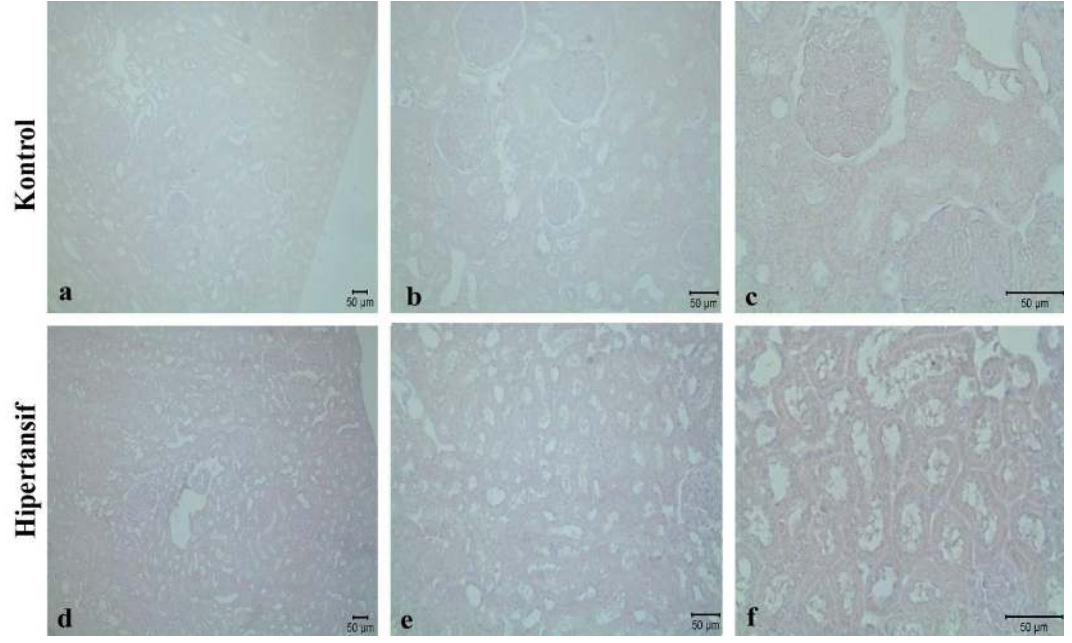
Şekil 4.4.4.3a-f Kontrol ve hipertansif böbreklerde papillanın apelin reseptörü immünboyanması. a) Kontrol grubu papilla büyütme: 10 X b) Kontrol grubu papilla -büyütme : 20 X c) Kontrol grubu papilla büyütme 40 X toplayıcı tübül (t.t.) damar endoteli (kırmızı ok) intersisyal hücreler (siyah ok) henle kulbu (ok başı) d) Hipertansif grubu papilla -büyütme: 10 X e) Hipertansif grubu papilla -büyütme : 20 X f) Hipertansif grubu papilla -büyütme 40 X toplayıcı tübül (t.t.) intersisyal hücreler (siyah ok) henle kulbu (ok başı)

4.4.4.4. Negatif Kontrol Sonuçları

Böbrekteki negatif kontrol kesitlerde apelin (Şekil 4.4.4.4.1a-f) ve apelin reseptörü (Şekil 4.4.4.4.2a-f) immünreaksiyonu gözlenmedi. Elde edilen bu sonuçlar antikorlarımızın spesifik olarak çalıştığını göstermektedir.



Şekil 4.4.4.4.a-f Kontrol ve hipertansif böbreklerde korteksin negatif kontrol immünboyanması. a) Kontrol grubu korteks-büyütme: 10 X b) Kontrol grubu korteks-büyütme : 20 X c) Kontrol grubu korteks-büyütme 40 X d) Hipertansif grup korteks-büyütme: 10 X e) Hipertansif grup korteks-büyütme : 20 X f) Hipertansif grup korteks-büyütme 40 X



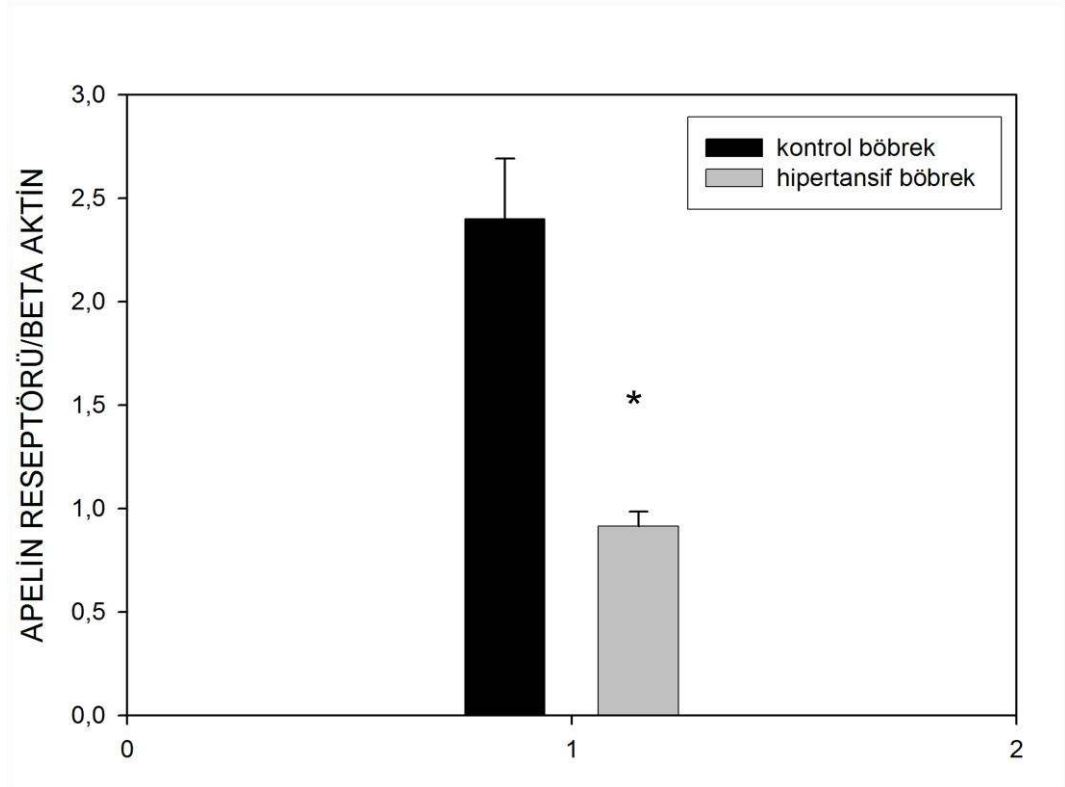
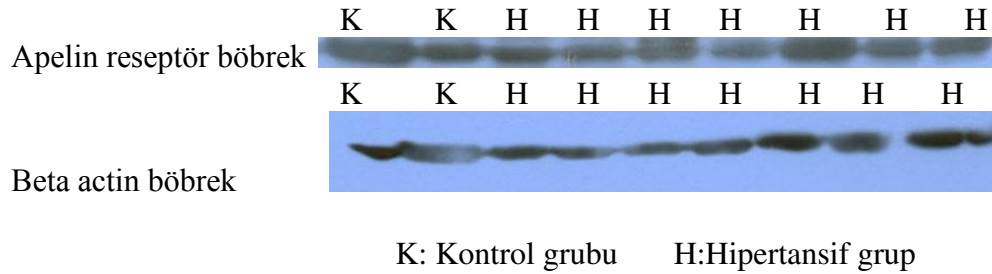
Şekil 4.4.4.5.a-f Kontrol ve hipertansif böbreklerde apelin reseptörü negatif kontrol immünboyanması a)Kontrol grubu korteks-büyütme: 10 X b) Kontrol grubu korteks-büyütme : 20 X c) Kontrol grubu korteks-büyütme 40 X d)Hipertansif grup korteks-büyütme: 10 X e) Hipertansif grup korteks-büyütme : 20 X f) Hipertansif grup korteks-büyütme 40 X

4.5.SDS-PAGE Western Blot Sonuçları

İmmünohistokimyasal bulgularımızı desteklemesi amacıyla yapmayı planladığımız Western Blot çalışmalarımızda deney prosedürü tamamen uygulanmasına rağmen apelin antikoru çalışmadı. Apelin düzeyini göstermeyi amaçladığımız bantları ortaya koyamadık.

4.5.1.Böbrekteki Apelin Reseptörünün Ekspresyonu

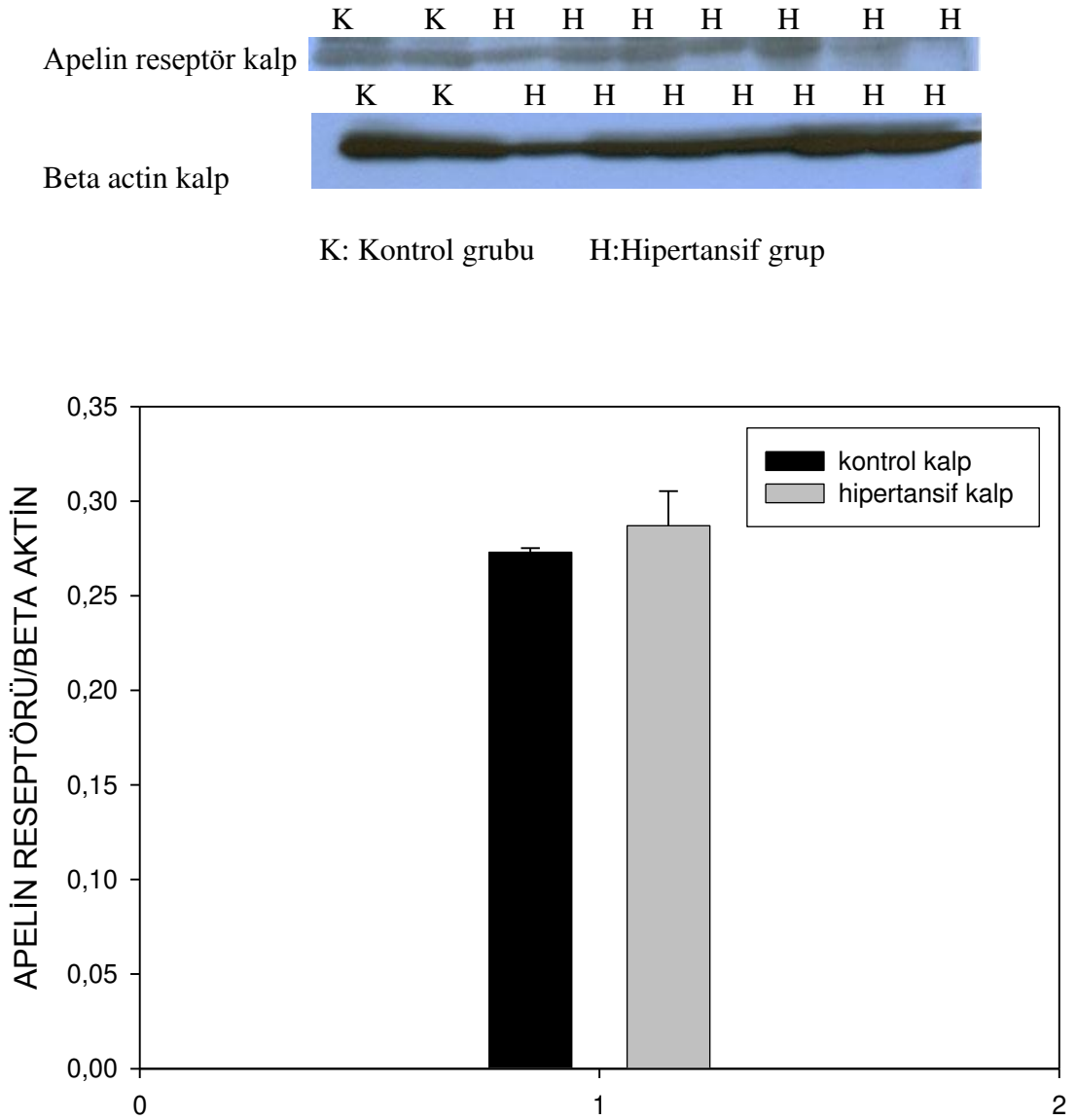
Apelin reseptörünün böbrek dokularındaki ekspresyonunu Western Blot yöntemi ile incelediğimizde kontrol grubu kalplerdeki apelin reseptörü/beta aktinin matematiksel değeri $2,401 \pm 0,290$ iken; hipertansiyon grubunda $0,913 \pm 0,0714$ olduğu bulundu. Bu değerlere istatistiksel analiz-student's t-test-uygulanığında aralarında anlamlı bir istatistiksel farklılık olduğu gözlemlendi ($p = <0,001$). Sonuç olarak kontrol grubundaki apelin reseptörü/beta aktinin hipertansif gruptan fazla olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.5.1. Böbrekteki Apelin Reseptörünün Ekspresyonu

4.5.1. Kalpteki Apelin Reseptörünün Ekspresyonu

Kalp dokularındaki apelin reseptörünün ekspresyonunu Western Blot yöntemi ile incelediğimizde kontrol grubunda apelin/beta aktinin matematiksel değeri $0,273 \pm 0,00218$, hipertansiyon grubunda $0,287 \pm 0,0183$ olarak bulundu. Bu değerlere istatistiksel analiz-student's t-test-uygulandığında aralarında istatistiksel bir farklılık olmadığı gözlemlendi ($p = 0,857$).



Şekil 4.5.2. Kalpteki Apelin Reseptörünün Ekspresyonu

TARTIŞMA

Hipertansiyonun koroner kalp hastalığı, kalp yetmezliği ve renal hastalıklar gibi önemli hasarlara yol açtığı bilinmektedir. Hem insanlarda hem de hayvanlarda esansiyel hipertansiyonun etiyolojisiyle ilgili önemli hipotezlerden birisi de hipertansiyonun endotelial disfonksiyona sebep olabileceğidir [26]. Hipertansiyon patogeneğinde endotel disfonksiyonu önemlidir ve obezitede yağ dokusundan salınan inflamatuvar sitokinler endotel üzerinde etki eder ve vasküler kontraktileti etkiler [140]. Adipoz dokudan salınan adipokinler arasında yeni bir peptit olan apelin, vücudun birçok yerinde eksprese olmaktadır [141]. Apelin yaygın olarak periferde endotel hücreleri tarafından da sentezlenmektedir [143]. Özellikle son zamanlarda yapılan çalışmalar kalp, beyin, damar endoteli, böbrek, akciğer, retina, mide, meme, pankreas gibi farklı organlar ile oldukça dikkat çekmiştir [82,111].

Yeni keşfedilen ve adipositokin olarak da tanımlanan apelin daha çok beyaz adipoz dokuda üretilir, ayrıca böbrek ve kalpteki kahverengi adipoz dokuda da üretilmektedir [144]. Apelin organizmada farklı sistemlerde yaygın olarak bulunmaktadır. Miyokardiyum, kardiyak endotelyum ve büyük damarların endotelyumu, küçük damarlar ve arterlerde aktif olduğu bildirilmiştir [13-15]. Bazı klinik çalışmalarda apelinin kalp yetmezliği patolojisinde de önemli bir role sahip olabileceği bildirilmiştir [13,16]. Yapılan çalışmalar çoğunlukla plazma düzeyindeki apelin seviyesi ile ilgilidir [18,21]. Hipertansif olgularda plazmadaki apelin seviyesinin düştüğü belirtilmektedir [21]. Fakat bu sonuç organizma için genel sonuçtur ve organlara ait spesifik bir bilgi bulunmamaktadır.

Etik kaygılar nedeniyle insanlarda hipertansiyonun mekanizmasını, yan etkilerini ve tedavisini ortaya koyan çok detaylı çalışmalar yapılamamaktadır. Bu sebeple hipertansiyon mekanizmasıyla ilgili, organa ait spesifik çalışmalar deney hayvanlarında yapılmaktadır. Hipertansiyonun zarar vermiş olduğu en önemli organlardan olan kalp ve böbrek dokusu çalışmamızın spesifik organlarını oluşturmuştur. Bu amaçla çalışmamızda deneysel hipertansiyon modeli elde etmek amacıyla L-NAME kullanılmıştır. Elde edilen hipertansif deneklerde kalp ve böbrek dokusundaki apelin ekspresyonu detaylı bir şekilde gösterilmeye çalışılmıştır.

Apelin, kardiyovasküler sistem üzerine farklı etkileri olan nispeten yeni bir adipokindir. Kardiyovasküler sistemde; Apelinin hipotansif etkisi endotel kaynaklı nitrik oksit aracılığıyla olmaktadır [145-148]. Bu hipotansif etki farelerde ve sıçanlarda nitrik oksit sentetaz inhibitörü olan L-NAME ile ortadan kalkmaktadır. Bunun yanında apelin de nitrik oksit metabolitlerinin plazma düzeyini arttırmaktadır. Fare endotel kültürlerinde apelinin endotel kaynaklı nitrik oksit sentetaz enziminin fosforilasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Diğer yandan, endotel kaynaklı nitrik oksit sentetaz aktivitesi bu yolağın dışında birçok farklı yolla (leptin ve insülin gibi) artmaktadır. Bu nedenle apelinin sağlam endotel dokusunda nitrik oksit bağımlı vazodilatasyon yaparken, hasarlı endotelde

endotelden bağımsız, direkt düz kas hücreleri üzerinden vazokonstriksiyon yaptığı sonucu ortaya çıkmaktadır [145-149].

Apelin, kalp yetmezliği sırasında kardiyak yükü azaltırken, kalbin kompliyansını ve kontraktıl rezervini arttırması, iskemik kalp hastalığı ve kalp yetmezliğinde teröpatik özellik göstermektedir [18].

Bulgularımıza göre hipertansif gruba ait atriumlarda geniş boşluklar, miyokardium ve septum interventrikularede ise parçalanmalar şeklinde morfolojik değişiklikler saptanmıştır (Şekil 4.3.1-3).

Ellinor ve arkadaşları apelin seviyelerinin atrium kasılması olan hastalarda düştüğünü göstermiştir ki bu, o peptitin serum konsantrasyonunun bu tür bir kalp ritim bozukluğu başlangıcında belirti bulunmayan bireylerde bir risk endeksi olarak kullanılabileceğini ifade eder [12]. Apelin, atrial fibrilasyonun gelişiminde belirleyici bir marker olarak kullanılabilir. Apelinin pozitif inotropik ve lusitropik aksiyonda, kardiyak remodelling ve iskemik kalp hastalığında rolü bulunmaktadır [17-18]. Foldes ve arkadaşları iskemik kalp hastaları ve sağlıklı kişilerdeki atriumlara baktıklarında apelin seviyesinin hasta kişilerde daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir [150]. Çalışmamızda ise hipertansif grubun atrium ve ventrikul dokularında ki apelin ekspresyonu yoğun/çok yoğun pozitif olarak saptanmıştır. Ayrıca hipertansif grupta kalp dokusundaki apelin reseptörü/ beta aktinin protein ekspresyonunun da arttığını tespit ettik. Sonuçlarımız hipertansif gruptaki apelin ekspresyonunda artış olduğunu göstermektedir.

Apelin periferik damar direncini azaltırken koroner damarlarda vasodilatör etki yapar [13,16]. Li Z ve ark. ise koroner arter hastalığında, apelin düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir. Buna karşın Lee ve arkadaşları konjestif kalp yetmezliğinde, Iglesias ve arkadaşları koroner arter hastalığında apelin düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir [18,151]. Çalışmamızda Iglesias ve arkadaşları tarafından rapor edilen bilgilere paralel olarak hipertansif grupta apelin ekspresyonunun arttığını saptadık. Hipertansif grupta artan apelin ekspresyonunun yanı sıra koroner arterlerde de genişleme olduğunu tespit ettik.

Hipertansiyonun böbrek damar yatağındaki etkisi mikrosirkülasyon derecesine bağlıdır. Pre-glomerüler otoregülatör mekanizma böbrekte kan akımı ve basıncını sağlamada yetersiz kaldığında renal hasar oluşumu hızlanmaktadır [61]. Deneyssel olarak oluşturduğumuz hipertansif olguların böbrek dokularında bahsedilen bu bilgilerle uyumlu olarak çeşitli morfolojik değişiklikler gözlemlenmiştir. Bulgularımızda glomerul aparat, proksimal ve distal tübüllerde boyuna daralma gözlemlenirken toplayıcı tübüllerin ve henle kulbunun hacminde ise belirgin bir artış görülmüştür. Saptanan bu morfolojik değişiklikler sonucunda renal hasarın oluştuğunu ifade edebiliriz.

Apelin, renal hemodinamiğin regülasyonunda, sıvı hemostazı ve hipertansiyonda görev almaktadır [12]. Kronik böbrek yetmezliği ve diyaliz hastalarında apelin düzeyinin arttığı ve azaldığı yönünde çeşitli çalışmalar mevcuttur [12,152,153]. Kardiyovasküler hastalıkların fizyo-patolojisinde ve

bunun yanı sıra kronik böbrek yetmezliğinde Apelin ve apelin reseptörünün görev aldığı bildirilmektedir [152,153,154].

Hipertansif olguların böbrek dokusundaki apelin ekspresyonu ile ilgili yeterli literatür bilgisi yok denecek kadar azdır. Bu sebeple bulgularımızı tam anlamıyla tartışabileceğimiz bir araştırmaya ulaşamadık. Bunun yanı sıra MaLyszkoJ ve ark. kronik böbrek hastalığında apelin düzeylerinin azaldığını rapor etmişlerdir [12].. Aynı şekilde çalışmamızda hipertansif gruba ait böbreklerde apelin ve apelin reseptörünün ekspresyonunda azalma olduğunu saptadık. Ayrıca sunulan bulgularımızı destekleyici şekilde hipertansif grupta apelin reseptörü/beta aktinin protein ekspresyonunda da azalma tespit ettik ($p<0.001$).

Hus-citharel ve arkadaşları rapor ettikleri çalışmada sadece apelin reseptörü çalışmışlardır. Bu çalışmalarında apelin reseptörünün özellikle böbrek korteksinde ve medullanın iç kısımlarında yer aldığını, proximal ve distal tübüllerde ise bulunmadığını belirtmişlerdir [155]. Rapor edilen bu bilgilerle uyumlu olarak çalışmamızda böbrek korteks ve medullasında apelin reseptörü ekspresyonu pozitif gözlemlenmiştir. Proksimal tübüllerde de Hus-citharel ve arkadaşları ile aynı sonuç elde edilmiştir. Farklı bir sonuç olarak distal tübüllerde de apelin reseptörünün ekspresyonu tespit ettik.

Çalışmamızda L-NAME ile hipertansif yapılan ratlarda spesifik olarak kalp ve böbrek dokusundaki apelin ve APJ reseptörünün ekspresyonu immünohistokimyasal ve Western Blot ile incelenmiştir. Sonuç olarak hipertansif olgularda kalp dokusundaki Apelin ve APJ reseptörünün ekspresyonunda artış, böbrek dokusundaki Apelin ve APJ reseptörünün ekspresyonunda ise azalma saptanmıştır. Bulgularımızın hipertansif ve apelin ile ilgili yapılacak deneysel veya klinik çalışmalara katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

Altı hafta boyunca L-NAME vererek hipertansiyon oluşturmaya çalıştığımız deneklerimizden iki hafta ara ile toplam dört kez sistolik kan basıncı ölçümleri alınmıştır. İkinci, üçüncü ve dördüncü ölçümler sonucunda deney grubu (hipertansif) ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak amaçladığımız hipertansif denekler elde edilmiştir.

Hipertansif ve kontrol grubuna ait dokulardaki (kalp- böbrek) apelin ve apelin reseptör ekspresyonunun sonuçları aşağıdaki gibidir:

- 1- Hematoksilen – Eozin boyama ile görülen morfolojik değişiklikler;
 - Hipertansif gruba ait olguların atriumlarında geniş boşluklar, septum interventrikülarde ve miyokardiyum dokusunda parçalanmalar ayrıca koroner arter çapında da artış gözlemlenmiştir.
 - Genel olarak hipertansif gruba ait dokuların korteks renalisindeki yapılarda daralma, medulla renalisindeki yapılarda ise genişlemeler görülmüştür.
- 2- Apelin ve apelin reseptörü immün boyama yoğunluğu hipertansif grubun atrium dokularında yoğun pozitif olarak tespit edilmiştir.
- 3- Apelin ve apelin reseptörü immün boyama yoğunluğu hipertansif grubun ventrikül dokularında ise çok yoğun olarak görülmüştür.
- 4- Kalp dokusundaki apelin reseptörü/ beta aktinin protein ekspresyonunun hipertansif grupta arttığı saptanmıştır ($p= 0.857$).
- 5- Böbrek dokusundaki apelin ekspresyonu genel olarak hipertansif grupta yoğun pozitif, kontrol grubunda ise çok yoğun pozitif olarak izlenmiştir. Sonuç olarak böbrekte hipertansif gruptaki apelin ekspresyonunda azalma görülmüştür.
- 6- Böbrek dokusundaki apelin reseptörünün ekspresyonu genel olarak hipertansif grupta pozitif, kontrol grubunda ise yoğun pozitif olarak izlenmiştir. Sonuç olarak böbrekte hipertansif gruptaki apelin reseptörünün ekspresyonunda azalma görülmüştür.
- 7- Böbrek dokusundaki apelin reseptörü/beta aktinin protein ekspresyonunun hipertansif grupta azaldığı saptanmıştır ($p<0.001$).

KAYNAKLAR

1. Doggrell SA, Brovvnn L Rat models of hypertension. cardiac hypertrophy and failure. Cardiovasc Res 1998; 39: 89-105
2. Fadiloglu E, Ozyurt H, Erdogan H, Emre MH Xanthine Oxidase Activities And Malondialdehyde Levels In Heart Tissue After Myocardial Ischemia-Reperfusion On Rats With Hypertension Induced By L-Name Ege Tıp Dergisi 40 (2). 75 -81, 2001
3. Hropot M. Grotsch H, Klaus E, Langer KH, Linz W, Wlemer G, Scholkens BA Ramipril prevents the detrimental sequels of chronic NO synthase inhibition in rats: hypertension. cardiac hypertrophy and renal insufficiency. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1994 Dec; 350 (6): 646-52.
4. Dunbar CC: The antihypertensive effects of exercise training; NY State J Med, Vol 92, No 6: 250-255, 1992
5. Fregly MJ: Effect of an exercise regimen on development of hypertension in rats; J Appl Physiol, 56(2): 381-387, 1984.
6. Tipton CM, Matthes RD, Callahan A, Tchong TK, Lias LT: The role of chronic exercise on resting blood pressures of normotensive and hypertensive rats; Medicine and Science in Sports, Vol 9, No 3: 168-177, 1977.
7. Kuru O, Senturk UK, Demir N, Yesilkaya A, Erguler G, Erkilic M: Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition; Eur J Appl Physiol, 87(2):134-40, 2002
8. Loscalzo J. Welch G Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. Progr Cardiovas Dis 1995; 38. 87-104.
9. Sander M, Hansen J, Victor RG The sympathetic system is involved in the maintenance but not initiation of the hypertension induced by N sup omega-Nitro-L-Arginine Methyl Ester. Hypertension 1997; 30: 64-70.
10. Moncada S, Higs A The L-arginine-nitric oxide pathway. New Eng J Med 1993; 329; 2002-2012
11. Tipton CM: Exercise, training and hypertension: An update; Exerc Sport Sci Rev, 19: 447-505, 1991

12. Ellinor PT, Low AF, Macrae CA. Reduced apelin levels in lone atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2006; 27 (2): 222-6.
13. Barnes G, Japp AG, Newby DE Translational promise of the apelin--APJ system *Heart*. 2010 Jul;96(13):1011-6
14. Ladeiras-Lopes R, Ferreira-Martins J, Leite-Moreira AF The apelinergic system: the role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications *Arq Bras Cardiol*. 2008 May;90(5):343-9
15. Liao YM, Qiao FY Expression of Apelin in placentas of patients with hypertensive disorders complicating pregnancy *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2007 Jun;42(6):382-5
16. Pitkin SL, Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Modulation of the apelin/APJ system in heart failure and atherosclerosis in man. *Br J Pharmacol*. 2010 Aug;160(7):1785-95.
17. Atluri P, Morine KJ, Liao GP, Panlilio CM, Berry MF, Hsu VM, Hiesinger W, Cohen JE, Joseph Woo Y Ischemic heart failure enhances endogenous myocardial apelin and APJ receptor expression *Cell Mol Biol Lett*. 2007;12(1):127-38. Epub 2006 Nov 19
18. Lee DK, George SR, O'Dowd BF. Unravelling the roles of the apelin system: prospective therapeutic applications in heart failure and obesity. *Trends Pharmacol Sci*. 2006; 27 (4): 190-4.
19. Iglesias-Osma M.C., Torres M.A., Garcia-Barrado M.J., Moratinos J Adipocytokines: implications in the prognosis and drug treatment of cardiovascular diseases *Rev Clin Esp*. 2008 May;208(5):239-46
20. Małyszko J , Małyszko JS, Kozminski P , Mysliwiec M . Apelin and Cardiac Function in Hemodialyzed Patients: Possible Relations? *Am J Nephrol* 2006;26:121–126
21. Sonmez A, Celebi G, Erdem G, Tapan S, Genc H, Tasci I, Ercin CN, Dogru T, Kilic S, Uckaya G, Yilmaz MI, Erbil MK, Kutlu M Plasma apelin and ADMA Levels in patients with essential hypertension *Clin Exp Hypertens*. 2010 May;32(3):179-83
22. Cohuet G, Struijker-Bouder H. Mechanism of target organ damage caused by hypertension:Therapeutic potential. *Pharmacology&Therapeutics* 111:81-98, 2006
23. Prugger C, Heuschmann PU, Keil U. Epidemiology of Hypertension in Germany and Worldwide. *Herz*. 31(4): 287-293, 2006

24. Türk Kardiyoloji Derneği Hipertansiyon Çalışma Grubu Ulusal Hipertansiyon Takip ve Tedavi Kılavuzu 2000
25. Yusuf S, Lonn E. Antiischemic effects of ACE inhibitors: a review of current clinical evidence and ongoing clinical trials. *Eur Heart J.* 19:36-44, 1998
26. Kaplan NM. Systemic hypertension. Mechanisms and diagnosis. Braunwald E. Heart disease. Philadelphia: WB Saunders Company, 811-816, 1997
27. Arıcı, M., Çağlar, Ş.: Hipertansiyon ve oluşturduğu sorunlar. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33 (1): 4-9, 2002.
28. Chobanian, AV., Bakris, GL., Black, HR., Cushman, WC., Gren, LA., Izzo, JL. Jr., Jones, DW., Materson, BJ., Oparil, S., Wright, JT. Jr., Roccella, EJ.: National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*, 289 (19): 2534-73, 2003.
29. Subramanian, U., Hofe, TP., Klamerus, ML.: Knowledge of blood pressure targets among patients with diabetes. *Primary Care Diabetes*, 1, 195-8, 2007.
30. Izzo, JL Jr., Kara, TJ., Somers, VK.: Stress responses and blood pressure reactivity, Sympathetic nervous system in human hypertension. Editors: Izzo JL Jr, Black HR. Hypertension Primer, 3th edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, page 123-129, 2004.
31. Önder, R., Akıllı, A.: Hipertansiyon, Ladin Matbaacılık, İzmir sayfa: 5-6, 1998.
32. Hansson, L., Hedler, T., Arakawa, K., Julius, S., Rodicio, JL., Zachetti, A.: Hypertension Manual, Second Edition, Elanders Gummersons AB, Falköping, page, 18-19, 1999.
33. Kaplan NM. Primer hypertension: Pathogenesis, in *Clinical Hypertension*; Williams & Wilkins, 7 th, 41-99, 1998
34. Kornitzer M, Dramaix M, De Backer Guy: Epidemiology of risk factors for hypertension-Implication for prevention and therapy; *Drugs*, 57(5): 695-712, 1999
35. DeArinano AA, Gonzalez LM: Endothelial dysfunction and hypertensive vasoconstriction; *Pharmacological Research*. 2: 113-124, 1999

36. Ross J Jr: Cardiovascular System: Heart failure, hypertrophy, and other abnormal cardiovascular states, in Best and Taylor's Physiological Basis of Medical Practice, Williams & Wilkins, 315-318, 1990
37. World Health Report (2002). "Reducing risks, promoting healthy life." http://epsl.asu.edu/ceru/Documents/whr_overview_eng.pdf. Switzerland, World Health Organization.
38. Brown, M.J., Haydock, S. (2000). "Pathoetiology, epidemiology and diagnosis of hypertension." *Drugs*, 59 Suppl 2: 1-12.
39. Hajjar, I., Kotchen, T.A. (2003). "Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the United States, 1988-2000." *JAMA*, 290(2): 199- 206.
40. Altun, B., Arıcı M., Nergizoğlu, G., Derici, U., Karatan, O., Turgan, C., Sindel, S., Erbay, B., Hasanoğlu, E., Çağlar, S. (2005). "Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in Turkey (the Patent study) in 2003." *J Hypertens*, 23(10): 1817-23.
41. Qiu CC, Zhou WY. Susceptible genes of essential hypertension. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. 28(2): 284-8, 2006
42. Unger N, Petersenn S, Mann K. Diagnosis and therapy of endocrine hypertension. *MedKlin (Munich)*. 22;101, 2006
43. Robert W.S hrier. Nefroloji El Kitabı (çeviri editörü Gültekin Süleymanlar). Güneş kitap evi. 231-264, 2000
44. Gian Paolo, R.: Hypertension., Exclusion of the ACE I / D Gene polymorphism as a Determination of endothelial Dysfunction, 37, 293 – 300, 2001.
45. Yılmaz, M.İ., Sönmez, A., Baykal, Y., Koçar İ. H. (Editör : Kenan Sağlam) : Hipertansiyon, Nisan, Sayı 37, 2003.
46. DiPiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Posey, L.M. (Ed.) (2005). *Pharmacotherapy: A pathophysiological approach*. United States of America, McGraw-Hill Companies
47. Önder, R., Akıllı, A.:Hipertansiyon, Ladin Matbaacılık, İzmir sayfa: 5-6, 1998.
48. Struijker Boudier, H.A., le Noble, J.L., Messing, M.W., Huijberts, M.S., le Noble, F.A., van Essen, H. (1992). "The microcirculation and hypertension." *J Hypertens Suppl* 10(7): S147-56.

49. Chobanian, A.V., Bakris, G.L., Black, H.R., Cushman, W.C., Green, L.A., Izzo, J.L., Jones, D.W., Materson, B.J., Oparil, S., Wright, J.T., Roccella, E.J. (2003). "Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure." *Hypertension*, 42(6): 1206-52.
50. Levy, D. (1988). "Left ventricular hypertrophy. Epidemiological insights from the Framingham Heart Study." *Drugs*, 35 Suppl 5: 1-5.
51. Devereux, R.B., Agabiti-Rosei, E., Dahlof, B., Gosse, P., Hahn, R.T., Okin, P.M., Roman, M.J. (1996). "Regression of left ventricular hypertrophy as a surrogate end-point for morbid events in hypertension treatment trials." *J Hypertens*, Suppl 14(2): S95-101; discussion S101-2.
52. Nadar, S.K., Tayebjee, M.H., Messerli, F., Lip, G.Y. (2006). "Target organ damage in hypertension: pathophysiology and implications for drug therapy." *Curr Pharm Des*, 12(13): 1581-92.
53. Safar, M.E. (2001). "Systolic blood pressure, pulse pressure and arterial stiffness as cardiovascular risk factors." *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 10(2): 257-61.
54. Heusch, G., Schulz, R., Haude, M., Erbel, R. (2004). "Coronary microembolization." *J Mol Cell Cardiol*, 37(1): 23-31.
55. Kaul, S., Ito, H. (2004). "Microvasculature in acute myocardial ischemia: part II: evolving concepts in pathophysiology, diagnosis, and treatment." *Circulation*, 109(3): 310-5.
56. Özcan, N., Ünsal, A. (1988). "Hipertansiyon Komplikasyonları ve Tedavilerindeki Yenilikler." *Türkiye Klinikleri*, 8(4).
57. Pinto, A., Tuttolomondo, A., Di Raimondo, D., Fernandez, P., Licata, G. (2004). "Cerebrovascular risk factors and clinical classification of strokes." *Semin Vasc Med*, 4(3): 287-303.
58. Posner, H.B., Tang, M.X., Luchsinger, R., Lantigua, R., Stern, Y., Mayeux, R. (2002). "The relationship of hypertension in the elderly to AD, vascular dementia, and cognitive function." *Neurology*, 58(8): 1175-81.
59. Hanon, O., Seux, M.L., Lenoir, H., Rigaud, A.S., Forette, F. (2003). "Hypertension and dementia." *Curr Cardiol Rep*, 5(6): 435-40.
60. Hsu, C.Y. (2002). "Does non-malignant hypertension cause renal insufficiency? Evidence-based perspective." *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 11(3): 267-72.
61. Bidani, A. K., Griffin, K. A. (2004). "Pathophysiology of hypertensive renal damage: implications for therapy." *Hypertension*, 44(5): 595-601.

62. Zoghi, M., Nalbantgil, I. (2002). "Hipertansiyon ve endotel fonksiyon bozukluğu." *Anadolu Kardiyoloji Derneği*, 2: 142-7.
63. Wong, T.Y., Mitchell, P. (2007). "The eye in hypertension." *Lancet*, 369(9559): 425-35.
64. DeArtinano AA, Gonzalez LM: Endothelial dysfunction and hypertensive vasoconstriction. *Pharmacological Research*. 40(2): 113-124,1999
65. Kulics JM, Collins HL, DiCario SE: Postexercise hypotension is mediated by reductions in sympathetic nerve activity. *Am J Physiol*. 276: H27-H32, 1999
66. Fujita K, Matsumura Y, Kita S, Miyazaki Y, Hisaki K, Takaoka M, Morimoto S: Role of endothelin-1 and the ETA receptor in the maintenance of deoxycorticosterone acetate-salt-induced hypertension. *Br J Pharmacol*. 114: 925-931,1995
67. Volpe M, Sosa E, Müller FB, Camargo MJF, Glorioso N, Laragh JH, Maack T, Atlas SA: Differing hemodynamic responses to atrial natriuretic factor in two models of hypertension, *Am J Physiol*, 250: H871-H878, 1986
68. Yu H, Rkugi H, Higaki J, Morishita R, Mikami Y, Ogihara T: The role of activated vascular angiotensin II generation in vascular hypertrophy in one-kidney, one-clip hypertensive rats. *J Hypertens*. 11: 1347-1355, 1993
69. Chandler M, DiCario SD: Acute exercise and gender alter cardiac autonomic tone differently in hypertensive and normotensive rats; *Am J Physiol*. 274: R510- R516,1998.
70. Roberto Z, Baylis C: Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension*. 32(6): 958-964, 1998
71. Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T, Palmer RMJ, Moncada S: Nitric oxide synthase inhibitors cause sustained, but reversible, hypertension and hindquarters vasoconstriction in Brattleboro rats. *Eur J Pharmacol*. 213:449-451, 1992
72. Sakuma I, Shundo H, Togashi H, Yoshioka M, Saito H, Nakamura T, Fujioka Y, Kitabatake A, Levi R: A chronic model of hypertension with increased sympathetic drive in the rat by inhibition of nitric oxide synthase, in *Biology of Nitric Oxide-3 Physiological and clinical aspects*. Portland Press. pp.245-247, 1994
73. Kolatkar, S.B., Kulkarni, S.D., Joglekar, G.V. (1973). "Quantitative evaluation of blood pressure responses in dogs to various vasoactive

agents under the influence of commonly used anaesthetics." *Indian J Pharmacol* 5: 378-83.

74. Kurtz, T.W., Griffin, K.A., Bidani, A.K., Davisson, R.L., Hall, J.E. (2005). "Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 2: blood pressure measurement in experimental animals: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research." *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25(3): e22-33.
75. Thompson, E.B. (1990). *Drug bioscreening: Drug Evaluation Techniques in Pharmacology*, VCH Publishers, Inc., New York.
76. Gürdal F, Ademoğlu E. *Biyokimya. Nobel Kitap Evi*. 746-747, 2005
77. Onat T, Emerk K, Sönmez EY. *İnsan biyokimyası*. Palma yayıncılık Ankara 487-488, 2002
78. Bruhwyler J, Cnleide E, Liegeois JF, Carreer F: Nitric oxide: A new messenger in the brain; *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 17:373-384, 1993
79. Cooke JP, Dzau V: Nitric oxide synthase: Röle in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med*, 48: 489-509, 1997
80. Lago F, Dieguez C, Gomez Reino J, Gualillo O, Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation *Nat Clin Pract Rheumatol* 2007; 3: 716–724.
81. Beltowski J (2006). Apelin and visfatin: Unique “beneficial” adipokines upregulated in obesity. *Med Sci Monit*, 12(6):112-119.
82. Kleinz MJ, Davenport AP (2004). Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial cells. *Regul Pept*, 118:119-125.
83. O'Dowd BF, Chan A, George SR, et al. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene* 1993; 136: 355–60.
84. Tatemoto K, Fujii R, Fujino M, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 251: 471–6.
85. Sarah L, Maguire J, Pitkin J, et al. Apelin Receptor Nomenclature, Distribution, Pharmacology, and Function. *Pharmacol Rev* 2010; 62: 331–342.

86. Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, et al. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J Biol Chem* 2000; 275: 21061–7.
87. O'Carroll AM, Lolait SJ, Palkovits M, et al. Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1492(1): 72-80.
88. Medhurst AD, Davis RP, Ellis C, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem* 2003; 84 (5): 1162-72.
89. Devic E, Audigier Y, Bodin S, et al. Amino acid sequence and embryonic expression of msr/apj, the mouse homolog of *Xenopus* X-msr and human APJ. *Mech Dev* 1999; 84: 199-203.
90. Edinger AL, Choe W, Faulds D, et al. An orphan seven-transmembrane domain receptor expressed widely in the brain functions as a coreceptor for foldes ghuman immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus. *J Virol* 1998; 72: 7934–7940.
91. Sörhede Winzell M, Magnusson C, Ahren B. The APJ receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regul Pept* 1 2005; 31: 12–7.
92. Leprêtre N, Mironneau J. Alpha 2-adrenoceptors activate dihydropyridine-sensitive calcium channels via Gi-proteins and protein kinase C in rat portal vein myocytes. *Pflugers Arch* 1994; 429(2): 253–61.
93. Lee D.K, Cheng R, Fan T, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor, *J. Neurochem* 2000; 74: 34-41.
94. Katugampola SD, Davenport AP, Maguire JJ, et al. [(125)I]-(Pyr(1)) Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *Br J Pharmacol* 2001; 132 (6): 1255-60.
95. Matsumoto M, Akiho H, Hidaka K, et al. Low stringency hybridization study of the dopamine D4 receptor revealed D4-like mRNA distribution of the orphan seven-transmembrane receptor, APJ, in human brain. *Neurosci Lett* 1996; 219: 119–122.
96. Chen MM, Ashley EA, Deng DX, et al. Novel role for the potent endogenousinotrope apelin in human cardiac dysfunction. *Circulation* 2003; 108: 1432–1439.

97. Katugampola SD, Davenport AP, Kuc RE, et al. G protein-coupled receptors in human atherosclerosis: comparison of vasoconstrictors (endothelin and thromboxane) with recently orphanized (urotensin-II, apelin and ghrelin) receptors. *Clin Sci* 2002; 103 Suppl 48: 171-5.
98. Kleinz M.J, Davenport A.P. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacol Ther* 2005;107:198-211.
99. Japp AG, Newby DE. The apelin-APJ system in heart failure: pathophysiologic relevance and therapeutic potential. *Biochem Pharmacol* 2008; 75: 1882-92.
100. Quazi R, Palaniswamy C, Frishman WH. The emerging role of apelin in cardiovascular disease and health. *Cardiol Rev* 2009; 17: 283-6.
101. Chandrasekaran B, Dar O, McDonagh T. The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *Eur J Heart Fail* 2008; 10: 725-32.
102. Maguire JJ, Davenport AP. Regulation of vascular reactivity by established and emerging GPCRs. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26: 448-54.
103. Iwanaga Y, Kihara Y, Takenaka H, et al. Down-regulation of cardiac apelin system in hypertrophied and failing hearts: possible role of angiotensin II-angiotensin type 1 receptor system. *J Mol Cell Cardiol* 2006; 41: 798–806.
104. Frishman WH, Lee BY, Galandauer I, et al. Potassium-channel openers and sodium/hydrogen-channel effectors. In: Frishman WH, Sonnenblick EH, Sica DA, eds. *Cardiovascular Pharmacotherapeutics*. 2nd ed. New York, NY: McGraw Hill; 2003:481–500.
105. Berry MF, Pirolli TJ, Jayasankar V, et al. Apelin has in vivo inotropic effects on normal, and failing hearts. *Circulation* 2004; 110: 187-193.
106. Goetze JP, Rehfeld JF, Carlsen J, et al. Apelin: a new plasma marker of cardiopulmonary disease. *Regul Pept* 2006; 133: 134-8.
107. Chong KS, Gardner RS, Morton JJ, Ashley EA, et al. Plasma concentrations of the novel peptide apelin are decreased in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2006; 8: 355-60.
108. Francia P, Salvati A, Balla C, et al. Cardiac resynchronization therapy increases plasma levels of the endogenous inotrope apelin. *Eur J Heart Fail* 2007; 9: 306-9.

109. Weir RA, Chong KS, Dalzell JR, et al. Plasma apelin concentration is depressed following acute myocardial infarction in man. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 551-8.
110. Alan G, Nicholas L, Cruden D. Newby Vascular Effects of Apelin In Vivo in Man. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 52; 908-13.
111. Cheng X, Cheng XS, Pang CC. Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats. *Eur J Pharmacol*. 2003; 470(9): 171-75.
112. Shida J, Hashimoto T. Regulatory roles for APJ, a seven- transmembrane r eceptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo. *J Biol Chem* 2004; 279(7):74 – 79.
113. Erdoğan D, Hatiboğlu T, Görgün M, Ilgaz C. Genel Histoloji. 2 Baskı. Ankara. HatipoğluYayınevi.1999
114. Sağlam M. AştıRN, Özer A. Genel Histoloji, 6. Baskı. Ankara. Yorum Matbaacılık. 2001
115. Erkoçak A, Genel Histoloji, 2. Baskı, Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1978
116. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. Aytekin Y, Solakoğlu S, Ahışalı B (Çev). 8. Baskı. İstanbul. Barış Yayınevi. 1998
117. Telford I.R, Bridgman C.H, Introduction to Functional Histology, 2nd ed. New York, Harper Collins College Publisher, 1995
118. Leeson C.R, Leeson T.s, Histology, 3rd ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1976
119. Arey L.B, Human Histology, 4th ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1974.
120. Özer A, Yakışık M, Özfiliz N, Erdost H ve Zık B (2006) *Histoloji Kılavuzu* Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa.
121. Banks WJ (1986) *Applied Veterinary Histology*. Williams&Wilkins Baltimore USA, S:431-446.
122. Tanyolaç A (1999) *Özel Histoloji*. Yorum Basım Yayın San. Şti. Ankara. Sf:121-30.
123. Martini FH, Ober WC, Garrison CW, Welch K, Hutchings RT and İreland K (2005) *Anatomy&Physiology*, Benjamin-Cummings Publishing Company USA. S:712-742

124. Aytekin Y ve Solakoğlu S (Çeviri Editörleri) (2006). *Temel Histoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
125. Paker Ş (1990) *Histoloji*. Uludağ Ünv. Basımevi. Bursa
126. Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. JAMA 1996;275:1571–6.
127. Schmieder RE, Messerli FH. Hypertension and the heart. J Hum Hypertens 2000;14:597-604.
128. Aktoz M, Erdogan O, Altun A. Electrocardiographic prediction of left ventricular geometry patterns in patients with essential hypertension. Int J of Cardiol 2007;120:344- 50.
129. Reichek N, Devereux RB. Left ventricular hypertrophy: Relation of anatomic, echocardiographic and electrocardiographic findings. Circulation 1981;63:1391-8.
130. Devereux RB, Pickering TG, Harshfield GA, Kleinert HD, Denby L, Clark L et al. Left ventricular hypertrophy in patients with hypertension: Importance of blood pressure response to regularly recurring stress. Circulation 1983;68:470-6.
131. Litwin SE, Grossman W. Diastolic dysfunction as a cause of heart failure. J Am Coll Cardiol 1993;22:49–55.
132. Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJV, Ponikowski P, Poole-Wilson PA et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). Eur Heart J 2008;29:2388–442.
133. Haider AW, Larson MG, Benjamin EJ, Levy D. Increased left ventricular mass and hypertrophy are associated with increased risk for sudden death. J Am Coll Cardiol 1998;32:1454-9
134. Kadiri S, Thomas JO. Kidney histology and clinical correlates in malignant hypertension. E Afr Med J 1993;70:112–6.
135. Raine AEG. Hypertension and the kidney. British Medical Bulletin 1994;50:322–41.
136. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G et al. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The

Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2007;28:1462–536.

137. Pontremoli R, Leoncini G, Viazzi F, Ratto E, Vaccaro V, Falqui V et al. Evaluation of subclinical organ damage for risk assessment and treatment in the hypertensive patient: Role of Microalbuminuria. *J Am Soc Nephro* 2006;17:112–4.
138. HOPE Study Investigators. Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: results of the HOPE study and MICRO-HOPE sub-study. *Lancet* 2000;355:253-9.
139. Garg JP, Bakris GL. Microalbuminuria: marker of vascular dysfunction, risk factor for cardiovascular disease. *Vasc Med* 2002;7:35-43.
140. H. YAMAWAKI. Vascular Effects of Novel Adipocytokines. Focus on Vascular Contractility and Inflammatory Responses. *Biol. Pharm. Bull.* 2011; 34(3): 307-10
141. Habata Y, Fujii R, Hosoya M. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochim Biophys Acta.* 1999; 1452: 25-35.
142. Mehta S, Farmer JA. Obesity and inflammation: a new look at an old problem. *Curr Atheroscler Rep.* 2007;9(2):134–38.
143. Wisse BE, Kim F, Schwartz MW. Physiology. An integrative view of obesity. *Science.* 2007; 318(5852):928-29.
144. De Falco M, De Luca L, Onori N, Cavallotti I, Artigiano F, Esposito V, De Luca B, et al. Apelin expression in normal human tissues. *In Vivo* 2002; 16: 333-336.
145. Kojima Y, Quertermous T. Apelin-APJ signaling in retinal angiogenesis arterioscler. *Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 1717–1722.
146. Szokodi I, Tavi P, Foldes G. Apelin the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res* 2002; 91: 434–40
147. De Falco M, De Luca L, Onori N, Cavallotti I, Artigiano F, Esposito V, De Luca B, et al. Apelin expression in normal human tissues. *In Vivo* 2002; 16: 333-336.
148. Brailoiu GC, Dun SL, Yang J, Ohsawa M, Chang JK, Dun NJ. Apelin immunoreactivity in the rat hypothalamus and pituitary. *Neurosci Lett* 2002; 327: 193–197.

149. De Mota N, Reaux-Le Goazigo A. Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 10464–69.
150. Foldes G, Horkay F, Szokodi I, Vuolteenaho O, Ilves M, Lindstedt A, Mayranpaa M, Sarman B, Seres L, Skoumal R, Lako-Futo Z, deChatel R, Ruskoaho H, Toth M BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS 2003;308:480-485
151. Li Z, Bai Y, Hu J. Reduced apelin levels in stable Angina .*Intern Med* 2008;47:1951-5
152. Soltani Hekmat A, Najafipour H, Nekooian AA, Esmaeli-Mahani S, Javanmardi K. Cardiovascular responses to apelin in two-kidney-one-clip hypertensive rats and its receptor expression in ischemic and non-ischemic kidneys.*Regulatory peptides* 2011;172:62-68
153. Zhang J, Ren CX, Qi YF, Lou LX, Chen L, Zhang LK, Wang X, Tang C. Exercise training promotes expression of apelin and APJ of cardiovascular tissues in spontaneously hypertensive rats.*Life Sci.* 2006 Aug 15;79(12):1153-9.
154. Najafipour H, Soltani Hekmat A, Nekooian AA, Esmaeili-Mahani S. Apelin receptor expression in ischemic and non- ischemic kidneys and cardiovascular responses to apelin in chronic two-kidney-one-clip hypertension in rats. *Regul Pept.* 2012 Oct 10;178(1-3):43-50
155. Hus-Citharel A, Bouby N, Frugière A, Bodineau L, Gasc JM, Llorens-Cortes C. Effect of apelin on glomerular hemodynamic function in the rat kidney.*Kidney Int.* 2008 Aug;74(4):486-94

ÖZGEÇMİŞ

Rahime Şekerci 14. 08. 1985 tarihinde Antalya’da doğdu. İlköğrenimini Atatürk İlkokulu’nda, ortaöğrenimi Kamile Çömlekçioğlu Ortaokulu’nda tamamladı. 2004 yılında Metin-Nuran Çakallıklı Anadolu Lisesi’nden mezun oldu. Lisans öğrenimini 2009 yılında Karadeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde tamamladı. 2010 yılında Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nde Anatomi Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı’nda Araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.