

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Fizyoloji Anabilim Dalı

**NİTRİK OKSİT SENTAZ İNHİBİSYONU
HİPERTANSİYON MODELİNDE MAGNEZYUMUN KAN
AKIŞKANLIĞI ÜZERİNE ETKİSİ**

Melike CENGİZ

Doktora Tezi

Antalya, 2013

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Fizyoloji Anabilim Dalı

NİTRİK OKSİT SENTAZ İNHİBİSYONU
HİPERTANSİYON MODELİNDE MAGNEZYUMUN KAN
AKIŞKANLIĞI ÜZERİNE ETKİSİ

Melike CENGİZ

Doktora Tezi

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Filiz BASRALI

Bu Çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
Tarafından Desteklenmiştir (Proje No: 2011.03.0122.001)

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2013

**Sağlık Bilimleri Enstitü Kurulu Kararı ve Akdeniz Üniversitesi
Senato Kararı;**

Sağlık Bilimleri Enstitüsünün 22.06.2000 tarih ve 02/09 sayılı Enstitü Kurulu kararı ve 23.05.2003 tarih ve 04/44 sayılı Akdeniz Üniversitesi Senato kararı gereğince 'Sağlık Bilimleri Enstitülerinde lisansüstü eğitim gören doktora öğrencilerinin tez savunma sınavına girebilmeleri için, doktora bilim alanında en az bir yurtdışı yayın yapması gerektiği' ilkesi gereğince yapılan yayınlar aşağıda belirtilmiştir. (Orjinali ekte sunulmuştur).

Cengiz, M., Ulker, P, Meiselman, HJ, Baskurt OK, Influence of tourniquet application on venous blood sampling for serum chemistry, hematological parameters, leukocyte activation and erythrocyte mechanical properties CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE Volume: 47, Issue:3 Pages: 769-776 Published: 2009

Uyuklu M, **Cengiz, M.**, Ulker P, Hever T, Tripette J, Connes, P, Nemeth N, Meiselman HJ, Baskurt OK Effects of storage duration and temperature of human blood on red cell deformability and aggregation CLINICAL HEMORHEOLOGY AND MICROCIRCULATION Volume: 41, issue:2, Pages: 269-278 Published: 2009

Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma, jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez danışmanı: Prof. Dr. Filiz BASRALI
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı



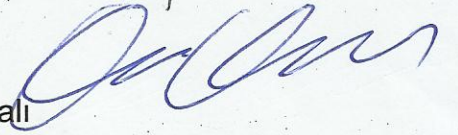
Üye: Prof. Dr. Ümit Kemal ŞENTÜRK
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı



Üye: Prof. Dr. İhsan KARADOĞAN
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı



Üye: Prof. Dr. Vural KÜÇÜKATAY
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı



Üye: Prof. Dr. Aysel AĞAR
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı



ONAY:

Bu tez, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../2007 tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmail Dönel

Enstitü Müdürü

ÖZET

Nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde magnezyumun kan basıncı ve kanın akışkanlık özellikleri üzerine etkileri bilinmemektedir. Bu çalışma ile NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde oral magnezyum tedavisinin yüksek kan basıncı ve kanın akışkanlık özellikleri üzerine olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Oral magnezyum tedavisinin gelişmekte olan hipertansiyon sürecindeki etkileri Kontrol (K), Magnezyum (M), Hipertansiyon (H) ve Hipertansiyon+Magnezyum (HM) gruplarında incelenmiştir. Yerleşmiş hipertansiyon sürecindeki etkilerin incelenmesinde ise Hipertansiyon (H-12) ve Hipertansiyon+Magnezyum (HM-12) grupları kullanılmıştır. Hipertansiyon indüksiyonu sıçanların içme suyuna 25 mg/kg/gün dozunda L-NAME eklenmesi, magnezyum replasmanı ise sıçanların %0.8 oranında MgO içeren yem ile beslenmesi yoluyla sağlanmıştır.

Deney sonuçları aşağıdaki gibidir;

1. Kan basıncı düzeyleri H grubunda L-NAME kullanımını takiben ilk haftadan itibaren K grubuna kıyasla önemli düzeyde artmış, HM grubunda ise H grubuna kıyasla 6. haftada önemli düşüş göstermiştir. HM-12 grubunda da H-12 grubuna göre benzer düşüş saptanmıştır.
2. Plazma magnezyum düzeyleri oral magnezyum tedavisi alan gruplarda yüksek bulunmuştur. Eritrosit magnezyum düzeyleri H grubunda K grubuna kıyasla önemli azalma göstermiş, HM grubunda ise H grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur.
3. Plazma viskozitesi ve agregasyon indeksi H grubunda K grubuna kıyasla önemli artış, HM grubunda ise H grubuna kıyasla önemli azalma göstermiştir.
4. OEH ve Htc düzeyi H grubunda K grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur. HM-12 grubunda ise H-12 grubuna kıyasla Htc değeri önemli azalma göstermiştir.
5. Diğer parametreler açısından gruplar arası fark saptanmamıştır.

Sonuç olarak; NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde oral magnezyum tedavisi kan basıncı üzerine olumlu etki göstermekte, ancak kanın reolojik özellikleri üzerine yalnızca geliştirmekte olan hipertansiyon sürecinde etkili olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Magnezyum, Hipertansiyon, Fibrinojen, Viskozite, Agregasyon

ABSTRACT

The effects of Magnesium on blood pressure and hemorheology in nitric oxide synthase (NOS) inhibition hypertension model is well-known. The aim of this study is to investigate the impact of oral magnesium therapy on high blood pressure and hemorheology in NOS inhibition hypertension model.

The effects of oral Magnesium therapy on new progressing hypertension were investigated in Control (K), Magnesium (M), Hypertension (H) and Hypertension+Magnesium (HM) groups. The observation on the effects in already developed hypertension was performed with Hypertension (H-12) and Hypertension+Magnesium (HM-12) groups. Hypertension was induced by addition of 25 mg/kg/day L-NAME into the drinking water and magnesium replacement was achieved by alimentation with %0.8 MgO including chow.

The results of our experiments were;

1. Blood pressure after L-Name induction was higher in H group compared with K group throughout the experiment. Blood pressure was significantly reduced at 6th week in HM group. Blood pressure was decreased similarly at 12 week in HT-12 group compared with H-12 group.
2. High plasma Magnesium concentrations were determined in the groups which were treated with oral Magnesium. Red blood cell magnesium content were lower in H group compared with C group and higher in HM group compared with H group.
3. Plasma viscosity and aggregation index were increased in H group compared with C group and decreased in HM group compared with H group.
4. MCV and Htc levels were higher in H group compared with K group. Mean Hct value was decreased in HM-12 group compared with H-12 group.
5. There were no differences between groups on behalf of other parameters.

In conclusion; oral Magnesium therapy in NOS inhibition hypertension model revealed favorable effects on hypertension however it was effective on rheological properties in only already developed hypertension.

Key words: Magnesium, Hypertension, Fibrinogen, Viscosity, Aggregation

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Fizyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimim süresince, eğitimime emeği geen tüm hocalarıma, tez hocam Sayın Prof. Dr. Filiz BASRALI'ya,

Tezime yardımlarını esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Ümit Kemal ŞENTÜRK ve çalışma arkadaşlarım Sayın Pınar Ülker KARADAMAR ve Mehmet ÜYÜKLÜ'ye,

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Ana bilimdalı'nda bana tüm çalıŐmalarımda destek olan hocam Prof Dr. Atilla RAMAZANOĐLU'na,

Fizyoloji Anabilim dalındaki çalıŐmalarımda yardımlarını esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Personeline,

Teşekkür ediyorum.

Melike CENGİZ

Antalya, 2013

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	
2.1. Hipertansiyonun Tanımı ve Sınıflandırılması	4
2.2. Hipertansiyon Patofizyolojisi	4
2.2.1. Hipertansiyon İçin Genetik Yatkınlık	5
2.2.2. Sempatik Sinir Sistemi Aktivasyonu	5
2.2.3. İnsülin Direnci	5
2.2.4. Artmış Sodyum Alımı	6
2.2.5. Renal Sodyum Tutulumu	6
2.2.6. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron	7
2.2.7. Endotel Disfonksiyonu	7
2.2.8. Vasküler Hipertrofi	8
2.3. Hipertansiyon Modelleri	9
2.3.1. Genetik Modeller	9

2.3.2.	Genetik Olmayan Modeller	9
2.4.	Hipertansiyonda Tedavi	12
2.4.1.	Farmakolojik Tedavi	12
2.4.2.	Yaşam Tarzı Değişikliği Ve Nonfarmakolojik Tedavi	13
2.5.	Magnezyum	13
2.5.1.	Magnezyum Metabolizması	13
2.5.2.	Magnezyumun Fizyolojik Etkileri	14
2.5.3.	Magnezyum Ve Hipertansiyon	15
2.6.	Kanın Akışkanlık Özellikleri	16
2.6.1.	Büyük Damarlardaki Kan Akımı	17
2.6.2.	Kapiller Kan Akımı	18
2.7.	Kanın Akışkanlığını Belirleyen Faktörler	18
2.7.1.	Plazma Viskozitesi	19
2.7.2.	Hematokrit	19
2.7.3.	Eritrosit Agregasyonu	19
2.7.4.	Eritrosit Deformabilitesi	21
2.8.	Kanın Akışkanlığının Hipertansiyon İle İlişkisi	22
2.9.	Kanın Akışkanlığının Magnezyum Düzeyi İle İlişkisi	23
2.10.	Hipotez ve Amaç	24

GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1.	Deneylerin Tanımlanması ve Gruplandırma	25
3.2.	Kan Basıncı Ölçülmesi	26
3.3.	Biyokimyasal ve Reolojik Analizler İçin Kan Örneklerinin Alınması, Hazırlanması ve Saklanması	26
3.4.	Biyokimyasal Parametreler	27

3.4.1.	Plazma ve Eritrosit Magnezyum Düzeyi Ölçümü	27
3.4.2.	Plazma Fibrinojen Düzeyi Ölçümü	27
3.4.3.	Serbest Kalsiyum Düzeyi Ölçümü	27
3.4.4.	Serbest Magnezyum Düzeyi Ölçümü	28
3.4.5.	Tam Kan Sayımı	28
3.5.	Reolojik Parametreler	28
3.5.1.	Tam Kan ve Plazma Viskozitesi	28
3.5.2.	Eritrosit Agregasyonu	29
3.5.3.	Eritrosit Deformabilitesi	29
3.6.	İstatistik	30

BULGULAR

4.1.	Vücut Ağırlıkları, Yem ve Su Tüketimi	31
4.2.	Kan Basıncı Düzeyleri	31
4.3.	Biyokimyasal Parametreler	33
4.3.1.	Plazma ve Eritrosit Magnezyum Düzeyleri	33
4.3.2.	Plazma Fibrinojen Düzeyi Sonuçları	33
4.3.3.	Serbest Kalsiyum Düzeyleri	33
4.3.4.	Serbest Magnezyum Düzeyleri	33
4.3.5.	Tam Kan Sayımı	34
4.4.	Hemoreolojik Parametreler	35
4.4.1.	Tam Kan ve Plazma Viskozitesi Sonuçları	35
4.2.2.	Eritrosit Agregasyonu	36
4.2.3.	Eritrosit Deformabilitesi	36

TARTIŞMA	38
SONUÇLAR	44
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	60

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

NO	:	Nitrik oksit
NOS	:	Nitrik oksit sentaz
PGI₂	:	Prostoglandin I ₂
SSS	:	Santral sinir sistemi
RAAS	:	Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemi
ACE	:	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
Ang II	:	Anjiyotensin 2
SHR	:	Spontan hipertansif rat
DOCA	:	Deoksikortikosteron asetat
NOx	:	Plazma nitrit/nitrat
L-Name	:	N ω -nitro-L-arginin metil ester
TRPM6/TRPM7	:	Transient reseptör potansiyel melatonin
	:	kanalları 6 ve 7
Na⁺²/K⁺ ATPaz	:	Sodyum-potasyum adenozin trifosfataz
MgO	:	Magnezyum oksit
EDTA	:	Etilendiamin tetraasetik asit
Htc	:	Hematokrit
OEH	:	Ortalama eritrosit hacmi
OEHK	:	Ortalama eritrosit hemoglobin
	:	konsantrasyonu
PDF	:	İzotonik fosfat tamponu
EI	:	Elongasyon indeksi
SS_{1/2}	:	Maksimum elongasyon indeksinin yarısı
	:	kadar şekil değiştirmeye neden olan kayma
	:	kuvveti

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
2.1.	Newtonian ve non-Newtonian sıvılar için kayma gerilimi kayma hızı ve viskozite- kayma hızı arasındaki ilişkiler	17
2.2.	Plazmada içindeki eritrositlerin laminar akım çizgilerine etkileri	18
2.3.	Kan viskozitesi üzerine hematokritin etkisi	19
4.1.	Altı haftalık deney gruplarının deney süresince ölçülen haftalık kan basıncı değerleri	32
4.2.	Plazma fibrinojen düzeyleri	33
4.3.	Eritrosit içi serbest kalsiyum konsantrasyonları	34
4.4.	Eritrosit içi serbest magnezyum konsantrasyonları	34
4.5.	Tam kan ve plazma viskozite değerleri.	35
4.6.	Eritrosit agregasyon indeksi değerleri	36
4.7.	SS _{1/2} değerleri	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge		Sayfa
4.1.	Deney gruplarının vücut ağırlığı, günlük yem-su tüketimi, plazma ve eritrosit magnezyum düzeyleri	31
5.2.1.	Deney gruplarının kan basıncı değerleri.	32
5.3	Deney gruplarının tam kan sayımı sonuçları	34

GİRİŞ

Hipertansiyon hem gelişmiş hem de gelişmekte olan toplumlarda sık görülen, tedavi edilmediğinde önemli komplikasyonlara neden olan ve etiolojisinde çok sayıda faktörün yer aldığı bir hastalıktır. Bu özellikleri nedeniyle hipertansiyon patogenezi ve tedavisine yönelik araştırmalar günümüzde hala bilimsel çalışmaların önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Sempatik sinir sistemi aktivitesinde artış, sodyum tutulumu, endotel disfonksiyonu ve renin üretimindeki dengesizlikler hipertansiyon patogenezinde yer alan başlıca mekanizmalar arasında sayılabilir (1,2,3). Hipertansiyon olgularının büyük kısmını oluşturan ve nedeni bilinmeyen primer ya da esansiyel hipertansiyonda saptanan ortak bulgu ise sistemik vasküler dirençteki kalıcı artıştır (1,2).

Endotel kaynaklı vazodilatör ve vazokonstriktör ajanlar arasındaki denge, periferik damar direnci ve dolayısıyla kan basıncını etkileyen önemli faktörlerden birisidir. Nitekim bu dengenin bozulmasıyla karakterize kronik endotel disfonksiyonu, ateroskleroz, hipertansiyon, kalp yetmezliği gibi birçok hastalığın gelişimine katkıda bulunmaktadır (4,5). Endotel hücrelerinden salgılandığı bilinen başlıca gevşetici faktörlerden birisi nitrik oksit (NO)'tir. Hipertansif hastalarda bazal NO üretiminin bozulduğu, bunun yanı sıra biyoyararlanımının azaldığı, yıkımının ise arttığı gösterilmiştir. Ayrıca hipertansif hastaların NO uyarıcılarına verdikleri vazodilatör yanıtlar da genelde bozuk bulunmuştur (6,7). NO azlığının hipertansiyon gelişimine katkısı olduğu fikrini destekleyen bulgular çeşitli hayvan çalışmalarıyla da ortaya konmuştur (8,9). Deneysel olarak nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonu yoluyla oluşturulan hipertansiyon modeli aynı zamanda hipertansiyon patogenezinin yönelik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (10).

Aralarındaki neden-sonuç ilişkisi tam olarak ortaya konamamış olsa da, hipertansiyonun gelişim ve /veya ilerleme sürecine katkıda bulunabileceği düşünülen faktörlerden bir tanesi de kan dokusunda ortaya çıkan değişikliklerdir. Hipertansif hastalarda kan hücrelerini ve plazma kompozisyonunu içeren değişiklikler çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Genel olarak hipertansiyonda olduğu gösterilen tam kan ve plazma viskozite artışı, eritrosit reolojisindeki değişiklikler ve artmış trombosit agregasyonu, özellikle mikrodolaşım düzeyinde kanın akım özelliklerini değiştirmekte ve hipertansiyona bağlı doku-organ hasarları ile de ilişkilendirilmektedir (11-13).

Hipertansiyon durumunda, kanın akışkanlığında önemli rol oynayan eritrositlerde de çeşitli değişiklikler saptanmıştır. Bu değişiklikler başlıca

eritrosit membran fosfolipid/kolesterol oranı, hücre hacmi, membran iyon transportu ve eritrositlerin reolojik özelliklerindeki değişimleri kapsamaktadır. Azalmış eritrosit deformabilitesi ve artmış eritrosit agregasyonu hipertansif hastalarda olduğu gösterilen önemli hemoreolojik değişikliklerdir (14,15).

Bunun yanı sıra çeşitli yollarla oluşturulan farklı deneysel hipertansiyon modellerinde de eritrosit reolojisinde değişikliklerin olduğu gösterilmiştir (16,17). Hipertansiyonda eritrosit mekaniğinde ortaya çıktığı gösterilen bu değişikliklerin, kan basıncı ve periferik direnç artışına katkıda bulunduğuna dair tam olmasa da genel olarak bir fikir birliği bulunmaktadır. Antihipertansif tedavilerin hipertansiyona eşlik eden bu reolojik değişiklikleri düzeltip düzeltmediği ise tartışma konusudur (18,19).

Öte yandan hipertansiyon gelişiminde önemli olabileceği üzerinde durulan bir diğer faktör magnezyum eksikliğidir. Birçok epidemiyolojik çalışma magnezyum tüketimi ile kan basıncı arasında ters bir ilişki bulunduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra deneysel ve klinik çalışmalar da magnezyum eksikliğinin hipertansiyon patogenezinde rol oynadığını desteklemektedir (20-22). Çeşitli deneysel hipertansiyon modellerinde hipomagnezemi ve doku magnezyum seviyelerinde azalma olduğu gösterilmiştir (23-27). Spontan hipertansif sıçanlardan elde edilen kardiyomiyosit, çizgili kas ve damar düz kası kültür hücrelerinde normotansif kontrol hayvanlarına kıyasla magnezyum konsantrasyonunun düşük olduğu saptanmıştır (28,29). Bununla birlikte magnezyumun hipertansiyon tedavisinde kan basıncı üzerine etkisini inceleyen çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Hipertansif hastalarda magnezyum tedavisinin kan basıncını düşürücü etkisinin olduğunu gösteren çalışmaların (30,31) yanı sıra etkisinin bulunmadığını ifade eden çalışmalar da bulunmaktadır (32,33). Magnezyumun hipertansiyon tedavisinde yer alıp alamayacağı çeşitli deneysel hipertansiyon modellerinde de incelenmiştir. İnsanlardaki esansiyel hipertansiyonun hayvan modeli olarak kabul edilen spontan hipertansif sıçanlarda erken dönemde uygulanan magnezyum tedavisinin kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir (34,35). Öte yandan DOCA-tuz hipertansiyon modeli ve siklosporin ile indüklenen hipertansiyonda da magnezyum tedavisinin sıçanlarda kan basıncını düşürücü etkileri bulunmuştur (25,36,37).

Magnezyumun kan basıncı üzerine olan etkisini vasküler tonus ve reaktivite üzerinden gösterdiği ileri sürülmektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar magnezyumun çeşitli vasküler yataklarda vazodilatasyonu ve kan akımını arttırdığını, vasküler dirençte azalmaya neden olduğunu, agonist aracılı vazokonstriksiyonu azalttığını ve kan basıncını düşürdüğünü göstermiştir (38-40). Vasküler düz kasta magnezyum, kalsiyumun hücre içine girişini inhibe ederek düz kas kontraktilesinde, dolayısıyla damar tonusunda azalmaya neden olmaktadır (41,42). Bunun yanı sıra endotel fonksiyonunun düzenlenmesinde de etkili olduğu bildirilmektedir. Magnezyumun vasküler endotel hücrelerinde NO ve prostasiklin (PGI₂) üretimini uyararak endotel aracılı vazodilatasyona katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (43,44). Magnezyumun vasküler fonksiyonlar üzerindeki etkilerine aracılık edebilecek

diğer olası mekanizmalar ise magnezyumun antioksidan, antienflamatuar ve büyümeyi düzenleyici özelliklerini kapsamaktadır (45,46).

Antihipertansif ajan olarak kullanılmaya aday olan magnezyumun NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde kan basıncı ve kanın akışkanlık özellikleri üzerine etkili olup olmadığı ise bilinmemektedir. Bu çalışma ile NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde oral magnezyum tedavisinin yüksek kan basıncı ve kanın akışkanlık özellikleri üzerine olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

2.1. Hipertansiyonun Tanımı Ve Sınıflandırılması

Arteriyel kan basıncının normal sayılan sınırların üstüne çıkmasına hipertansiyon denir. Ancak, normal sayılması gereken kan basıncı düzeyi konusunda tartışmalar sürmektedir. Hipertansiyonun, inme, koroner kalp hastalığı gibi major komplikasyon risklerinde artışı beraberinde getiren kan basıncı yüksekliği olarak tanımlanması da mümkündür. Bugün için sistolik kan basıncının 140 mmHg, diyastolik kan basıncının da 90 mmHg veya üzerinde bulunması hipertansiyon olarak tanımlanmaktadır (2,3,47).

Hipertansiyon primer ve sekonder olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Başka bir hastalığa sekonder olarak kan basıncının yükselmesi durumu sekonder hipertansiyon olarak bilinir ve tüm hipertansiyon vakalarının yaklaşık % 5 kadarını oluşturur. Sekonder hipertansiyonun başlıca nedenleri renal, endokrin ve vasküler anomaliler olup, etken tıbbi veya cerrahi girişimle ortadan kaldırıldığında düzelir (1,3).

Kesin nedeni belirlenemeyen primer hipertansiyon ise hipertansif hastaların yaklaşık % 95'inde görülür ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Aşağıda patofizyolojisi ile ilgili bilgilere yer verilmiştir.

2.2. Hipertansiyon Patofizyolojisi

Kan basıncının kontrolü böbrekler, santral sinir sistemi, periferik sinir sistemi, vasküler endotel ve adrenal bez arasındaki karmaşık etkileşimle sağlanır. Sistemik kan basıncını belirleyen ve birbiriyle etkileşen birçok faktör olması nedeniyle hipertansiyondan sorumlu tek bir etiyoloji veya patofizyolojik mekanizma yoktur. Genetik altyapı yanı sıra yaş, cinsiyet, metabolik özellikler, yaşam tarzı, sosyoekonomik durum ve çevresel faktörlerin de kan basıncı değişiklikleri üzerine etkisi bulunmaktadır (1,2,48).

Kan basıncını belirleyen hemodinamik parametreler kalp debisi ve periferik arteriyel direnç olduğuna göre, hipertansiyona neden olan faktörler bu ikisinden birinde veya her ikisinde artışa yol açmak suretiyle etki ederler. Özellikle yeni teşhis edilmiş genç hipertansiflerde, kalp debisinin artmış olduğu hiperkinetik bir dolaşımın varlığı saptanabilir. Bu debi artışı iki farklı mekanizmayla gerçekleşebilir; intravasküler hacim artışı (önyük) veya kalbin nöral uyarımının artmasına bağlı kontraktilitenin artması. Ancak, her ne kadar hastaların bazılarında hipertansiyonun başlangıç evrelerinde kalp debisi yüksek bulunsa da hipertansif hastaların tipik hemodinamik bulgusu, artmış periferik vasküler dirence eşlik eden normal kalp debisidir (49). Hipertansiyon oluşumunda rolü olan patofizyolojik faktörler arasında artmış sempatik sinir

sistemi aktivitesi, sodyum retansiyonu yapan hormonların ve vazokonstriktör maddelerin aşırı üretimi, vazodilatör maddelerin yetersiz üretimi, renin üretimindeki dengesizlikler, diyetle sodyumun fazla ve potasyumun az alınması, obezite, insülin direnci, diyabet ve damar endotel hücresinin büyümesinde etkili faktörlerin aşırı üretimi sayılabilir (1,2,3).

2.2.1. Hipertansiyon İçin Genetik Yatkınlık

Hipertansiyon gelişiminde etkili olan birçok gen olmasına rağmen hipertansiyon için aile içi geçiş Mendel veya multifaktöriyel kalıtım türlerine uymamaktadır (50). Ailesel hipertansiflerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ve monozigot / dizigot ikizlerde yapılan kan basıncı karşılaştırılması çalışmalarında kan bağı olan akrabalar arasında kan basıncı dağılımının ortalamalara uygun seyrettiği gözlemlenmiştir. Yani, yüksek kan basıncı olan bireylerin çocuklarının hipertansif olma eğiliminde, düşük kan basıncı olan ebeveynlerin çocuklarının ise aynı oranda hipotansif olma eğiliminde oldukları saptanmıştır (48). Bu bulgular bir kişinin kan basıncına etki eden polijenik bir altyapının varlığını desteklemektedir.

2.2.2. Sempatik Sinir Sistemi Aktivasyonu

Sempatik sinir sistemi (SSS) aktivasyonunun artışı, hem hipertansiflerde ve hem de normotansif kişilerde kalp, böbrekler ve periferik damarlar üzerindeki etkileri yoluyla, kalp debisi ve damar direncini artırarak ve sıvı retansiyonuna neden olarak kan basıncında yükselmelere yol açar. SSS aktivasyonu sonucunda kalp hızında artış, periferik vazokonstriksiyon, adrenal bezlerden norepinefrin salınımı ve kan basıncında artış gerçekleşir. Renal sempatik uyarılma doğrudan sodyum reabsorpsiyonu ve jukstaglomerüler aparatın renin salınımını uyarır (51).

Bununla birlikte SSS aktivasyon artışı, özellikle yeni tanı konmuş genç hipertansif kişilerde tanımlanmıştır (52). Postgangliyonik sempatik sinir uçlarından salınan temel nörotransmitter norepinefrindir ve hipertansiflerin yaklaşık %30'unda kandaki norepinefrin düzeyi yükselmiştir. Bu bulgu özellikle 40 yaşın altındaki genç hastalarda belirgindir ve yaşla birlikte norepinefrin düzeyi azalır (53). Yani zamanla SSS aktivasyonu giderek azalmakta ve hipertansiyonun uzun süreli varlığındaki rolü zayıflamaktadır. Bu da SSS' deki aktivite artışının, hipertansiyonun süregelen olmasında değil de özellikle ortaya çıkmasında rolü olduğu görüşünü desteklemektedir. Artmış SSS aktivitesinin damar duvarında oluşturduğu yapısal değişikliklerin (damar düz kas hücresi hipertrofisi ve buna bağlı kompliyans azalması gibi), zamanla SSS'deki aktivitede azalma olmasına rağmen kan basıncı düzeyinin kalıcı olarak yüksek devam etmesine neden olduğu düşünülmektedir (51,52).

2.2.3. İnsülin Direnci

İnsülin direnci, glikozun periferik dokularda, özellikle iskelet kaslarında kullanımının azalmasıyla karakterize metabolik bir bozukluktur. Esansiyel hipertansiyonlularda insülin direnci sık görülür ve hipertansiyonla ilişkili toplam kardiyovasküler riskin artışında rol alır (54). Özellikle obez hipertansiflerin hemen tamamı, insülinin karaciğer tarafından alınımının

azalması sonucu hiperinsülinemiktir. Prospektif gözlem çalışmalarında, açlık insülin düzeyi yüksek olanlarda, ileride hipertansiyon gelişim riskinin 2-3 kat arttığı saptanmıştır.

Hipertansiflerde insülinin vazodilatör etkisi, insülin direnci ve artmış SSS aktivitesine bağlı olarak zayıflamıştır (55,56). İnsülin direnci ve hiperinsülineminin kan basıncı yükselmesine yol açmasıyla ilgili diğer patojenik mekanizmalar arasında; 1) diyetle alınan tuza kan basıncı duyarlılığının artışı, 2) renal tuz ve su tutulumunun artması, 3) hücre içinde sodyum ve kalsiyumun artması, 4) SSS aktivitesinin artması, 5) vazodilatör prostaglandinlerin azalması, 6) endotelin salınımının artması, 7) anjiyotensin-II'nin vazokonstriktör etkisinin ve aldosteron salınımını uyarıcı etkisinin artması, 8) damar düz kas hücresi büyüme faktörlerinin uyarılması sayılabilir. Bütün patofizyolojik faktörler arasında endotele bağımlı vazodilatasyonun azalması, insülin direncine bağlı hipertansiyon patogenezinde belki de en önemli rolü oynamaktadır (1,57).

2.2.4. Artmış Sodyum Alımı

Sodyum alımının artması, su tutulumunun artışı ve kalp debisinin artışına yol açarak ve ayrıca renal fonksiyonları ve vasküler reaktiviteyi değiştirerek hipertansiyona neden olabilir (58). Batı tipi diyetlerde erişkinler günlük sodyum gereksiniminin birkaç misli; hipertansiyonu indükleyebilecek eşik değerin (60-120 mEq/gün) çok üstünde sodyum tüketmektedir. Bu yüksek dozda sodyum tüketenlerin hepsinde hipertansiyon gelişmemekte, ancak eşzamanlı olarak renal sodyum atılımında bir bozukluk olanlarda zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır. Yani sodyum alımının artması, hipertansiyon gelişiminde gerekli fakat tek başına yeterli olmayan bir faktördür. Burada önemli olan bir ayrıntı, sodyumun klorlu tuzunun (NaCl) hipertansiyona neden olduğu, sodyum bikarbonat veya askorbatın ise böyle bir etkisinin olmadığıdır (59). Diyetin fazla sodyum içeriğine ek olarak düşük potasyum içermesi, sodyum fazlalığından gelen zararlı etkiyi arttırmaktadır (60).

2.2.5. Renal Sodyum Tutulumu

Böbreklerden sodyumun geri-alımının artışına yol açan birkaç patojenik yol vardır. Bunlardan birincisi; konjenital veya edinsel hastalıklar sonucunda nefron sayısı veya fonksiyonunda azalmaya bağlı olarak renal filtrasyon yüzeyinin azalmasıdır. Buna bağlı olarak böbreklerden sodyum ekskresyon miktarı azalmakta, kan basıncı yükselmekte ve bu da kısır bir döngüye neden olarak sistemik hipertansiyonu indüklemektedir. Aynı mekanizma ilerleyici renal hastalıkla seyreden diyabetik ve başka birçok edinsel renal hastalık için de geçerlidir (61).

Sodyum retansiyonuna neden olan ikinci mekanizma, basınç-natriürez ilişkisinin bozulmasıdır. Normal kişilerde kan basıncı yükseldiğinde, böbreklerden sodyum ve su atılımı artarak intravasküler hacim küçültülür ve böylece kan basıncı normale döner. Bu fenomene basınç natriürezi-diürezi

denir. Hipertansiflerde ise kan basıncı ile sodyum atılımı arasındaki bu ilişki bozulur ve kan basıncının bu yolla regülasyonu gerçekleşemez (62).

Nefron heterojenitesi sodyum retansiyonunun bir diğer nedenini oluşturabilir. Bunun anlamı, böbreklerde afferent arteriyollerde vazokonstriksiyona veya intrensek bir daralmaya bağlı olarak iskemik nefron topluluklarının bulunması ve buna bağlı olarak renin salgısının homojenitesinin bozulmasıdır. İskemik nefronlardan tonik olarak salınan renin, normal nefronların adaptif sodyum ekskresyonunu engelleyerek sodyum retansiyonu ve kan basıncı yükselmesine neden olur (63). Membrana bağlı sodyum transportu bozuklukları da sodyum retansiyonu ile sonuçlanabilir. Böylece diyetle alınan sodyum miktarı arttığında, yukarıdaki mekanizmalar yoluyla sodyum atılımının belirgin derecede azalması ve buna bağlı intravasküler hacim artışı ve kan basıncı yükselmesi gerçekleşir.

2.2.6. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi

Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemi (RAAS) hem hipertansif ve hem de normotansiflerde dolaşan kan hacmini ve kan basıncını düzenleyen en önemli mekanizmalardan birisidir. Renin böbrekte jukstaglomerüler hücrelerden salgınır ve karaciğerden plazmaya verilen anjiyotensinojenin anjiyotensin-I'e çevirilmesi reaksiyonunu katalize eder. Bu da anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından anjiyotensin-II (A-II)'ye yıkılır. RAAS'nin fizyolojik ve patolojik etkileri A-II üzerinden gerçekleşir (1,64). A-II'nin AT1 ve AT2 olmak üzere 2 tip reseptörü vardır ve etkilerinin çoğunu AT1 reseptörleri üzerinden gerçekleştirir. A-II'nin AT1 reseptörüne bağlanmasıyla periferik damarlarda vazokonstriksiyon, aldosteron sentez ve salgınımı, renal tübüler sodyum geri-alımı, SSS aktivitesi ve vasopressin salgınımı uyarılır. Ayrıca A-II, güçlü bir büyüme faktörü ve mitojen olup hücre ve matriks çoğalmasını uyarır (64,65).

Dolaşan kandaki RAAS'den ayrı olarak kalpte, kan damarlarında, beyinde ve adrenal kortekste lokal anjiyotensin-II üretimiyle sonuçlanan doku RAAS de tanımlanmıştır. Özellikle patolojik olaylarda lokal A-II üretimi ACE aktivitesinden bağımsız olarak alternatif yollarla oluşabilmektedir. Kalpte ve kan damarlarında A-II oluşumundan serin proteaz kimaz aktivitesi sorumlu tutulmaktadır (64,66). RAAS'nin bu dokularda da aktivitesini sürdürmesi, kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde henüz bilindiğinden daha yaygın bir rol aldığını düşündürmektedir.

2.2.7. Endotel Disfonksiyonu

Endotel hücreleri, damar duvarındaki düz kas hücreleri üzerinde vazoaaktif dilatasyon ve konstriksiyon yapan birçok lokal parakrin etkili madde salgılayarak hipertansiyon patogeneğinde aktif rol alır. Bunların içinde en güçlüleri NO ve endotelindir.

Nitrik oksit

Endotel hücrelerinden salgılanan NO vasküler tonusun düzenlenmesinde temel rol oynayan ajanlardandır. NO molekülünün

kimyasal yapısı, lokal etki gösteren ve biyolojik haberci rollerini kolaylaştıracak özelliktedir. NO, sudaki ve yağıdaki çözünürlüğü sayesinde biyolojik membran bariyerlerinden kolayca difüze olarak hücre içi hedeflerine ulaşır. Vasküler dokuda endotel hücrelerinde sentezlenen NO difüzyon yoluyla damar düz kas hücrelerine ulaşır ve bu hücrelerde gevşemeye yol açar (8,9).

NO'nun vazodilatör etkisinin yanı sıra, trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe edici, damar düz kas hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü engelleyici etkileri de vardır (67). Kan basıncı değişiklikleri, damar duvarındaki gerilim ve akıma bağlı mekanik değişiklikler (sheer stress) gibi birçok uyarana yanıt olarak endotel hücrelerinden NO salgısı olur. Böylece bölgesel ve sistemik kan akımı ve kan basıncı regülasyonunda rol alır (68). Ateroskleroza bağlı veya genetik olarak NO sentez veya salgılanmasındaki bir bozukluk, kişinin hipertansiyona olan yatkınlığını belirleyen önemli bir faktördür (69). Hipertansif hastaların hipertansiyonun orijininin bağımsız olarak NO salgılanmasını uyaran birçok faktöre karşı azalmış vazodilatör yanıt gösterdiği saptanmıştır. NO'ya bağlı vazodilatör yanıtta azalma, anormal vasküler yeniden şekillenmeye ve kalıcı hasara yol açabilir (12,13).

Endotelin

Endotel hücrelerinden salgılanan ve düz kas hücrelerine endotelin A reseptörü üzerinden etki ederek vazokonstriksiyona neden olan bir peptiddir (70). Bunun yanında, endotelin B reseptörüne bağlanarak prostasiklin ve NO üretimi yoluyla vazodilatasyon da yapabilir. Ciddi hipertansiyon oluşturulan hayvan modellerinde küçük damarların endotelinde endotelin üretiminin artmış bulunması, hipertansiyon patogenezinde endotelinin rolünü desteklemektedir. Endotelin üretimindeki artış, kan basıncı yükselmesinin yanında hipertansif kişilerde küçük damarlarda hipertrofik yeniden şekillenmenin oluşumundan da sorumlu tutulmaktadır (70,71). Kombine endotelin A/B reseptör blokleri olan bosentanın esansiyel hipertansiyonlu hastalarda kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir (72). Bu da endotelinin kan basıncı yükselmesindeki rolünü gösteren önemli bir kanıttır.

2.2.8. Vasküler Hipertrofi

Sodyum alımı fazlalığında ve renal sodyum tutulumuna ait bozukluklarda kan basıncı yükselmesine neden olan temel mekanizma, kalp debisindeki artıştır. Diğer birçok faktör ise temel olarak rezistans damarlarda vazokonstriksiyon ve hipertrofiye yol açarak periferik damar dirençteki artma yoluyla kan basıncı yükselmesine neden olur. Stres artışına bağlı SSS aktivitesinde artış, endotelin, A-II, hiperinsülinemi gibi birçok faktör, damar düz kas hücresinde tonüs artışı ve vazokonstriksiyona yol açabilir. Periferik direnç artışıyla sonlanan bu etkiler çapı 1 mm'den küçük olan distal arter ve arteriyollerde ortaya çıkmaktadır (73).

Periferik direnç, düz kas hücresi kontraktilesi, damar duvarının esnekliği ve geometrik şekli arasındaki karmaşık etkileşimle belirlenir (74). Örneğin, SSS aktivitesi arttığında vazokonstriksiyonla lümen çapı azalmakta

ve artan lümen içi basınç damar düz kas hücrelerinin hipertrofisini uyarmaktadır. Endotelin ve A-II gibi birçok mediyatör periferik direnç artışı ile sonlanan bir süreci başlatan birer faktör olmakta, bu faktörlerin etkisiyle ortaya çıkan vazokonstriksiyon ve hipertrofi ise periferik dirençteki artışın sürekliliğine neden olmaktadır. Bu mekanizma yavaş fakat ilerleyicidir ve sonuçta oluşan vasküler yapıdaki değişiklik (remodeling) nonspesifik olup başlatıcı mekanizmadan bağımsız olarak son patolojik yapının tüm esansiyel hipertansiyonlu hastalarda birbirine benzer olmasına yol açmaktadır (73,74).

Esansiyel hipertansiyonlu hastaların çoğunun plazmalarında geç dönemde vazokonstriktör hormonların düzeyleri normal bulunmaktadır. Erken yaşlarda bu hormonların düzeylerindeki çok az miktardaki artış bile hipertansiyonun başlangıcına neden olmakta, ancak daha sonraki evrelerde ön plana geçen vasküler ve hemodinamik değişiklikler primer faktörün gizlenmesine yol açmaktadır (75).

2.3. Deneysel Hipertansiyon Modelleri

2.3.1. Genetik Modeller

İnsanda esansiyel hipertansiyon en sık görülen hipertansiyon tipidir. Her bireyin fenotipine ait çok sayıda farklı gen hastalığın oluşumundan sorumludur. Bu nedenle, esansiyel hipertansiyon ile ilişkilendirilen tek bir genetik defekten söz edilemez. İnsan ve fare genomlarının kodlanması transgenik veya gen hedefli hipertansiyon modellerinin oluşturulabilmesini sağlamıştır. Fenotipik özelliklerine bağlı hipertansiyon bulunan sıçanlardan oluşturulan hipertansif alt türler farklı hipertansiyon şiddetine sahip kategorilerde çalışılabilmesini ve hangi genlerin sorumlu olduğunun anlaşılmasını mümkün kılmıştır. Tersine, genotipe bağlı yaklaşımda genetik girişimler (aşırı ekspresyon veya ablasyon) uygulanarak tek gen ile oluşmuş hipertansif bozukluk üzerinde çalışılabilmektedir (76).

Fenotipe Bağlı Genetik Modeller

Fenotipe bağlı genetik modeller, hipertansiyon çalışmaları için yaygın olarak kullanılmakta ve poligenik hipertansiyonun araştırılmasına imkan tanımaktadır. Homozigot hipertansif sıçan ırklarının geliştirilmesi için, istenen fenotipi taşıyan hayvanlar birkaç nesil çiftleştirilmektedir. Oluşturulan model 20 jenerasyon süresince genetik homojenitesini korur. Bu yaklaşım ile Wistar ırkından spontan hipertansif rat (SHR) veya stroke prone SHR modelleri oluşturulmuştur (77). SHR modelinde genetik mekanizmalar hem nöral hem de vasküler değişiklikler ile ilişkilidir. Irka özgü farklılıklar olmakla birlikte en az 3 majör gen hipertansiyon gelişiminden sorumludur (78,79).

Genotipe Bağlı Genetik Modeller

Hipertansiyondaki gen fonksiyonları, gen aşırı ekspresyonu (örneğin transgenik model) veya delesyonu (örneğin knockout model) yoluyla çalışılmıştır. Bu genetik çalışmalar sonucu vasküler tonus, renal fizyoloji ve/veya sıvı-elektrolit homeostazisindeki değişikliklere bağlı pek çok hipertansiyon modeli geliştirilmiştir (77,80).

2.3.2. Genetik Olmayan Modeller

İnsanda gelişen hipertansiyonun az bir kısmından sekonder nedenler sorumlu olup sıklıkla renovasküler kaynaklı, daha nadir olarak da endokrin ve/veya metabolik bozukluklara bağlı olarak gelişebilir. Genetik olmayan girişimler sonucu oluşturulmuş hayvan hipertansiyon modelleri özellikle hipertansiyona bağlı gelişen son organ hasarlarının ayrıntılı incelenebilmesine olanak sağlar (77).

Cerrahi İndüksiyon İle Geliştirilen Hipertansiyon Modelleri

Deneysel hipertansiyon hayvan modeli ilk kez 1934 yılında Goldblatt ve arkadaşları tarafından köpeklerde tek taraflı renal arter daraltılması yoluyla oluşturulmuştur (2K1C modeli). Bu model sonraki yıllarda sıçan, tavşan, domuz, maymun ve fare ırklarında tekrarlanmıştır (81-83). 2K1C modeli, 2 hafta sonra plato oluşturan ve ardından sıçanların %10-20'sinde geri dönebilen kademeli ve kronik kan basıncı artışı ile sonuçlanmaktadır. Hipertansiyonun şiddeti ve süresi klip tipi, diyet ve hayvan yaşından etkilenir (83,84). 2K1C modelinde hipertansiyon stenotik böbrekten renin ve anjiotensin salgısı tarafından etkilenir (85).

2K1C modelindeki son organ hasarı kliplleme süresi ve büyüklüğü ile doğru orantılıdır. Genellikle endotel disfonksiyonu, kardiyak hipertrofi (kalp büyüklüğünde %20-50) artış ve kontrateral böbrekte hipertrofi hipertansiyona eşlik eder. Tüm hipertansiyon modellerinde olduğu gibi bu etkilerden sistemik kan basıncı artışı, kan akımı paternindeki (non-laminer sıvı mekanikleri) ve kayma gerilimindeki değişiklikler sorumludur. Sıçan, tavşan ve köpeklerde renal arter stenozunun bulguları kontrateral nefrektomi uygulanarak (1K1C modeli) şiddetlendirilebilir (84,86).

Daha nadir uygulanan bir cerrahi hipertansiyon modeli ise her iki renal arterin tümüyle oklüzyonu yoluyla gerçekleştirilebilir. Bu şekilde köpek ve tavşanlarda kan basıncında hızlı ve şiddetli artış oluşur (87,88). Total veya subtotal nefrektomi uygulaması da hipertansiyon ile ilişkilidir. Bakteri, yabancı proteinler veya antikorların enjeksiyonları renal parankimal hastalık veya inflamasyon oluşturarak sıçan, tavşan ve köpeklerde hipertansiyon geliştirebilir (89).

Endokrin-Metabolik Ve Diyet İle Tetiklenen Hipertansiyon

Hipertansiyon indüksiyonunda 60 yıldır en sık kullanılan endokrin yöntem çoğunlukla, deoksikortikosteron asetat (DOCA) uygulamasıdır. Hipertansiyon gelişmesi için ek olarak parsiyel renal rezeksiyon veya yüksek tuzlu diyet gereklidir (90). Gelişen hipertansiyon volüm genişlemesi, kardiyak kitlede %30'a kadar artışa eşlik eden kardiyak debi artışı, endotel disfonksiyonu, proteinüri ve glomeruloskleroza neden olur. Sıçan ve farelerde glukokortikoid uygulaması da hipertansiyonu tetikler (91). Etki muhtemelen RAAS üzerinden olmakla birlikte DOCA'dan daha az etkiye sahiptir. RAAS komponentlerinin (renin, ATII ve benzeri) kronik infüzyonu da hipertansiyon indüksiyonunda kullanılabilir (92).

Kalıtımsal tuz duyarlılığı esansiyel hipertansiyon için risk oluşturduğundan deneysel hipertansiyon modellerinde farklı diyet girişimleri araştırılmıştır (93). Uygun genetik zemine sahip sıçanlarda yüksek sodyumlu diyet uygulaması hipertansiyonu tetikleyebilir (94). Sprague-Dawley ve Wistar Kyoto sıçanlarda yüksek fruktozlu diyet hem insülin rezistansına hem de hipertansiyona neden olur (95,96). Etki mekanizması insülin reseptörlerinin azalması ve AT 1 reseptörlerinin artışına bağlıdır.

Nitrik Oksit Sentaz Blokajı İle Oluşan Hipertansiyon Modeli

Periferik damar direnci artışıyla seyreden esansiyel hipertansiyon, NO ve prostasiklin gibi endotel kaynaklı vazodilatör sistemlerin yetersizliğiyle ilişkilendirilmiştir (5,10).

Seksenli yıllarda NO'nun keşfedilmesiyle birlikte araştırmalar kan basıncı artışının NO sentezindeki azalmayla olan ilişkisine yoğunlaşmıştır. Yaşlanma, hiperkolesterolemi ve arteriyel hipertansiyonda bazal ve uyarılmış NO sentez ve/veya salınımının azalması, oldukça güçlü bir vazodilatör olan NO'nun, arteriyel kan basıncı ile lokal kan akımının düzenlenmesinde önemli rolü olduğuna ve bu sistemin yetersizliğinin esansiyel hipertansiyon patojenezinden sorumlu olabileceğine işaret etmektedir (8,97). Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda plazma nitrit/nitrat (NOx) ve serum NO seviyesinde anlamlı bir azalma vardır. Serum NO seviyesinde meydana gelen azalma ortalama kan basıncı artışıyla korelasyon göstermekte ve plazma NOx seviyesi yaşlanmayla birlikte gittikçe azalmaktadır (98,99). Orta yaşlarda görülmeye başlayan esansiyel hipertansiyonun sıklığı yaşlılıkla artmaktadır. Yaşla birlikte meydana gelen değişikliklerin hemen hepsi kronik hipertansif bireylerde hızlanmaktadır ve sadece yaşlılarda görülebilen değişiklikler bu hastalarda çok daha erken yaşlarda ve daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Sonuçta esansiyel hipertansiyonda endotelial fonksiyon tedrici olarak bozulmakta ve zamanla NO seviyesinde meydana gelen azalma kan basıncında kademeli bir artışa neden olmaktadır (10,100).

NO, L-arginin'den NOS enzimleri tarafından sentezlenir. Bu enzim ailesinde başlıca NOS 1, NOS 2 ve NOS 3 izoenzimleri tanımlanmıştır. NOS enzimlerinin konstitütif ve indüklenabilir olmak üzere iki işlevsel sınıfı vardır. NOS 1 ve NOS 3 enzimleri kalıcı ve sabit (konstitütif) ekspresyonu olan enzimler olarak kabul edilirken, NOS 2 ekspresyonu büyük oranda sitokinler tarafından düzenlenir (8,10). Fakat yine de bazı durumlarda NOS 1 ve NOS 3 izoformlarının ekspresyonu da uyarılabilir. Örnek olarak, endotelial kayma gerilimi artışına (shear stress) sebep olan kan akımı artışı NOS 3 ekspresyonunda artış oluşturmaktadır (101).

Sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılan ilk NOS inhibitörü bir L-arginin analogu olan N^ω-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME)'dir (10,102). L-NAME'in suda çözünmesi ve içme suyuyla kolayca hayvanlara verilebilmesi, takip eden yıllarda bu modelin yaygın olarak kullanılmasına yol

açtı. Bunun dışında L-NAME'nin intraperitoneal injeksiyonuyla da sıçanlarda hipertansiyon oluşturulabilir (103).

NOS inhibisyonu ile oluşturulan bu model esansiyel hipertansiyon araştırmalarında kullanılmakla birlikte hipertansiyonun gelişim mekanizmaları henüz yeterince anlaşılammıştır. Total periferik direnç artışının, artmış renal sodyum tutulumunun, sempatik sistem aktivasyonunun ve çeşitli vazoaaktif maddelerin kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun gelişimine katkısı olduğu ileri sürülmektedir (10,104). Son yıllarda bu hipertansiyon modeli, artmış sodyum duyarlılığı ve sempato-adrenerjik sistem aktivitesi ile ön plana çıkmıştır (105). Genel olarak NOS inhibitörlerinin düşük dozlarının uygulanması ile oluşturulan hipertansiyondan daha çok sodyum tutulumunun, NOS inhibitörlerinin yüksek dozları ile oluşturulan hipertansiyondan ise daha çok total periferik direnç artışının sorumlu olduğu düşünülmektedir (104). Öte yandan, NO'nun kronik inhibisyonunun kan basıncında hacim bağımlı olarak da artışa neden olabileceği belirtilmektedir (10,104).

2.4. Hipertansiyonda Tedavi

Hipertansiyon tedavisindeki amaç, morbidite ve mortalitenin mümkün olan en basit şekilde azaltılmasıdır. Buna göre tolere edilebilmesi halinde sistolik kan basıncının 140 mmHg'nın, diyastolik kan basıncının ise 90 mmHg'nın altında tutulması hedeflenmelidir (47,106). Kan basıncının azaltılmasına paralel olarak varsa diğer kardiyovasküler risk faktörleri de kontrol altına alınmalıdır. Kan basıncının daha da azaltılması özellikle inme oranının azaltılması, böbrek fonksiyonlarının korunması ve kalp yetersizliğinin ilerlemesinin önlenmesinde de yararlı olabilir. Kan basıncının belirgin bir değerin altına düşürülmesi ile bazı komplikasyon olasılıklarının artacağını kabul edenler vardır (107). Bu araştırmacılara göre kan basıncı azaltılınca yüksek kan basıncına bağlı yan etkiler ve mortalite azalır. Ancak kan basıncı belirli bir düzeyin altına (diyastolik kan basıncı < 80-85 mmHg) düştüğünde gerek yan etkiler gerekse mortalitede artış görülebilir. Kan basıncındaki istenilen seviyelere ulaşmak için tek başına ilaç tedavisi yeterli olmayacaktır, daha sonra anlatılacak yaşam biçiminde yapılacak değişikliklerin de bu konuda kesin yararı vardır (108).

2.4.1. Farmakolojik Tedavi

Hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaçlar 5 ana grupta toplanabilir. Bunlar, diüretikler, sempatikolitikler ya da adrenerjik sinir sistemi antagonistleri, RAAS'ı etkileyen ilaçlar, damar düz kasında etkili ilaçlar olup aşağıda kısaca bahsedilmiştir (47,68,69,106).

Diüretikler: Antihipertansif etki mekanizmaları hala tam olarak bilinmeyen bu ilaçların uzun sürede vazodilatörler gibi davrandığı ya da sempatikolitik etki gösterdiği sanılmaktadır.

Adrenerjik Sistem Antagonistleri: Bu grup, sempatik sinir sistemini etkileyerek, sempatikolitik etki yaratan ilaçlardır. Merkezi ve periferik etkililer olmak üzere iki ana grupta toplanırlar.

Renin Angiotensin Aldosteron Sistemini Etkileyen İlaçlar: Bu grup ajanlar, ACE inhibitörleri ve angiotensin II reseptör antagonistlerini içermekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır.

Damar Düz Kasına Etkili İlaçlar: Kalsiyum kanal blokerleri (Nifedipin, Amlodipin, Verapamil, Diltiazem vb.), potasyum kanal açıcılar (diazoxide, minoxidil sülfat vb.), doğrudan damar düz kas gevşeticileri (Sodyum nitroprussid, hidralazine ve dihidralazine) bu grupta sayılabilecek ajanları oluşturmaktadır.

2.4.2. Yaşam Tarzı Değişikliği Ve Nonfarmakolojik Tedavi

Hipertansiyon tedavisi için kullanılan çeşitli ilaçların yanında yaşam kalitesini arttıracak bazı uygulamalar da tavsiye edilir. Non-farmakolojik tedaviyle kan basıncında sağlanan düşmenin kardiovasküler komplikasyonları ve inmeyi azalttığını/önlediğini gösteren direkt, randomize klinik çalışma bulunmamakla birlikte, yaşam tarzı değişikliği ve non-farmakolojik tedaviyle sağlanabileceği belirtilen olumlu sonuçlar şunlardır (109):

- Hastalarda sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncında düşme olur.
- Hipertansiyonla birlikte sık görülen dislipidemi ve glukoz intoleransında düzelmeye yardımcı olur.
- Hipertansiyon tedavisi için kullanılan ilaç sayısı ve dozunu azaltabilir.

Sigara içiminin bırakılması, vücut ağırlığı yüksek olan bireylerde kilo verme, tuz kısıtlaması, potasyum alımı ve düzenli egzersiz önerilen uygulamalar arasındadır (110). Öte yandan özellikle son yıllarda yoğunlaşan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar magnezyum eksikliğinin kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyon gelişiminde önemli bir risk faktörü olabileceğini işaret etmektedir (20,111,112). Tezin konusunu oluşturması nedeniyle magnezyum ve magnezyum-hipertansiyon ilişkisine aşağıda daha ayrıntılı yer verilmiştir.

2.5. Magnezyum

Magnezyum vücutta bulunan katyonlar arasında dördüncü, hücre içinde ise ikinci katyonu oluşturur. Enerji metabolizması, DNA ve protein sentezi için gerekli olan birçok enzim sistemi için kofaktör olmasının yanı sıra, çeşitli iyon kanallarının regülasyonunda önemli rol oynar. Magnezyum aynı zamanda hücre içi serbest kalsiyum düzeyini azaltıcı etkileri nedeniyle doğal kalsiyum antagonisti olarak da bilinir (113).

2.5.1. Magnezyum Metabolizması

Magnezyumun dağılımı, gastrointestinal emilim ve renal salınım yoluyla, metabolik ve hormonal etkilerle düzenlenir. İnsanda magnezyumun total vücut deposu ortalama 2000 mEq ve normal serum düzeyi 1,4-2,1 mEq/L'dir. Magnezyumun vücuttaki dağılım yüzdesi şöyledir: %53 kemikte, %27 kasta, %19 yumuşak dokuda, %0,5 eritrositlerde ve %0,3 oranında

serumda bulunur. Serumda mevcut olan hücre dışı magnezyumun %33'ü proteinlere bağlıdır, %12'si anyonlarla birleşik ve %55'i serbest iyonize formda bulunur (113,114).

Diğer katyonlardan farklı olarak magnezyum, ileum ve jejunumdan eşit olarak pasif absorpsiyonla emilir. Son zamanlardaki çalışmalarda barsaklardan aktif transselüler emilimin de olduğu gösterilmiştir. Bu emilim, diyetdeki magnezyum miktarına göre değişir. Magnezyum dengesini düzenleyen diğer önemli bir bölge böbreklerdir. Filtrata geçen magnezyumun yaklaşık %10-20'si proksimal tubulusten pasif paraselüler, %70'i Henle kulpundan pasif paraselüler, %10 kadarı da distal kıvrımlı tubulusten aktif transselüler olarak geri emilirken, sadece %5'lik miktarı idrarla atılır (115). Normal magnezyum seviyelerinde renal tubüler geri emilim en üst düzeyde olduğundan artmış konsantrasyonları geri emilimin azalmasına ve ekskresyonun artmasına neden olur. Magnezyumdan fakir diyetin, serum konsantrasyonunda değişim olmadan, belirgin artmış geri emilimle sonuçlanacağı ise gösterilmiştir (114).

Magnezyum homeostazisini sağlamaya yönelik dengeleyici mekanizmalar tam olarak bilinmemekle beraber eski çalışmalar, magnezyum homeostazisinin özel hormonal kontrol ile yapıldığını öne sürmektedir. Ancak kan ve idrar magnezyum düzeylerini kontrol eden endokrin faktörler hakkındaki bilgiler tam değildir. Ne vitamin D, ne de paratiroid hormonun direkt olarak magnezyumun durumunu etkilediği gösterilmiş değildir (116). Bunun yanında birçok faktör hücre içi ve dışı magnezyum oranında değişime yol açar. İntraselüler magnezyum konsantrasyonunun sıkı regülasyonu ancak hücre membranından giriş ve çıkışının hassas kontrolü ile mümkün olabilir. Transmembran magnezyum transportundan sorumlu olan taşıyıcı ve exchanger proteinler arasında $Na^{+2}-Mg^{+2}$ exchanger, $Ca^{+2}-Mg^{+2}$ exchanger, transient reseptör potansiyel melatonin kanalları 6 ve 7 (TRPM6 ve TRPM7) sayılabilir. Hem iskemi hem de asidoz magnezyumun hücre içi bağlanma bölgelerinden ayrılarak hücre dışına akışını hızlandırır (117-119) .

Hücre içerisinde magnezyum primer olarak nükleus, mitokondri ve endo/sarkoplazmik retikulum içerisinde bulunur. Magnezyum bu organellerde yaklaşık 116 mmol/kg hücre kuru ağırlığı konsantrasyonlarında dağılmıştır. Magnezyumun hücre içi serbest düzeyleri 0.6 mmol/L civarında sabit tutulur. Magnezyum regülasyonunda önemli bir unsur da katyonun ATP ile hücrenel tamponlama mekanizmasıdır (120,121).

2.5.2. Magnezyumun Fizyolojik Etkileri

Yüzlerce enzimatik reaksiyonun kofaktörü olan magnezyum, nükleotidleri kofaktör olarak kullanan enzimler için önemlidir. ATPaz gibi enerji metabolizmasında merkezi önemi olan enzimlerin aktivasyonundaki gerçek kofaktör, serbest nükleotid değil, bir magnezyum kompleksidir. Bunun yanı sıra magnezyum, protein ve nükleik asit sentezi, hücre siklusunun oluşması, hücre iskeleti ve mitokondri bütünlüğünün korunması ve maddelerin plazma membranına bağlanması için gereklidir. Bu nedenle

magnezyum, sadece substrat oluşumunda aktivator olarak değil, aynı zamanda membran stabilitesi için de önem taşır (113).

Magnezyum çeşitli iyonların transportunu, pompalar, taşıyıcılar ve kanallar aracılığı ile düzenler. Kalsiyum ATPaz ve sodyum-potasyum ATPaz (Na^+/K^+ -ATPaz) aktivasyonunun işleyişinde rol oynar. Bu enzim sistemlerinde kofaktör olarak görev alırken, hücre membranından sodyum ve potasyum akışını etkiler. Magnezyum, kardiyak hücrelerde potasyumun, potasyum kanallarından hücre dışına çıkışını bloke eder. Magnezyumun azalması, potasyumun hücre dışına çıkışına neden olarak depolarizasyonu tetikler ve bu yolla kardiyak aritmilere yol açabilir. Ayrıca, magnezyum düzeyindeki bozulmalar, sodyum potasyum gradyentini ve transmembran potansiyellerini değiştirerek nöromusküler eksitabilite veya irritabiliteyle sonuçlanabilir (122).

Magnezyum, hücre içi serbest kalsiyum miktarını düzenleyerek hücrenin kontraksiyon, proliferasyon, migrasyon ve sekresyon gibi fonksiyonlarını da etkiler. Kalsiyum kanallarının magnezyumla etkileşimi, kalsiyumun hücre içine akışına karşı yarışmalı antagonist etki yaratır. Ayrıca magnezyum, ryanodin reseptörleriyle de etkileşerek, hücre içi ana kalsiyum deposunu oluşturan sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum çıkışını da sınırlar (114). Bu mekanizmayla magnezyum, hücre içi kalsiyum seviyesini düzenler ve böylelikle düz kas tonusunu etkiler. Düz kas tonusunu düzenleyici etkisinden dolayı magnezyum eksikliği, kan basıncı artışı, nöromusküler hipereksitabilite, bronşiyal havayolu kasılması, koroner spazm ve nöbetlerden sorumlu tutulmuştur (115).

2.5.3. Magnezyum ve Hipertansiyon

Birçok epidemiyolojik çalışma magnezyum tüketimi ile kan basıncı arasında ters bir ilişki bulunduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra deneysel ve klinik çalışmalar da magnezyum eksikliğinin hipertansiyon patogenezinde rol oynadığını desteklemektedir (20,21,38,111). Çeşitli deneysel hipertansiyon modellerinde hipomagnezemi ve doku magnezyum seviyelerinde azalma olduğu gösterilmiştir (23-27). Spontan hipertansif sıçanlardan elde edilen kardiyomiyosit, çizgili kas ve damar düz kası kültür hücrelerinde normotensif kontrol hayvanlarına kıyasla magnezyum konsantrasyonunun düşük olduğu saptanmıştır (28,29). Ayrıca NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde de sıçanlarda eritrosit, serebral korteks, renal korteks ve medulla, renal arter ve ven gibi birçok dokuda magnezyum konsantrasyonunun azaldığı da gösterilmiştir (123). Bununla birlikte hipertansiyonda doku veya serum magnezyum düzeylerinde azalma olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (124).

Hipertansiyon gelişiminde magnezyum eksikliğinin rolü ile ilgili araştırmaların yanı sıra, hipertansiyon tedavisinde magnezyumun etkili olup olmadığını inceleyen çalışmalar da mevcuttur. Magnezyumun hipertansiyon tedavisinde yer alıp alamayacağı, bu konuda yapılan çalışmalara ait sonuçların da birbiriyle çelişmesi nedeniyle henüz kesinlik kazanmış değildir. Bu konuda hipertansif hastalarda uygulanan klinik çalışmaların bir kısmı oral

veya intravenöz magnezyum tedavisinin kan basıncını düşürücü etkisinin bulunduğunu (31,125,126) ve bu etkinin antihipertansif ilaç kullanan hastalarda daha da belirginleştiğini ifade ederken, bir kısmı da etkisiz olduğunu ileri sürmektedir (126-128). Bu çelişkili sonuçlar, çalışmalarda uygulanan tedavi protokollerinin, kullanılan magnezyum tuzu formlarının ve dozlarının farklılığından kaynaklanabileceği gibi, incelenen hipertansif hasta populasyonunun heterojen olmasından da ileri geliyor olabilir (112).

Bunun yanı sıra, hayvanlarda oluşturulan çeşitli deneysel hipertansiyon modellerinde de magnezyumun kan basıncı üzerine etkileri incelenmiştir. DOCA-tuz hipertansiyon modelinde ve siklosporin ile indüklenen hipertansiyonda magnezyum tedavisinin sıçanlarda kan basıncını düşürücü etkileri gösterilmiştir (25,36,37). SHR'lerde ise magnezyum tedavisinin hipertansiyonun gelişim evrelerinde ve prehipertansif dönemde uygulandığında kan basıncı üzerine düşürücü etkinin bulunduğu (34,35) ancak yerleşik hipertansiyonun geliştiği yetişkinlik döneminde kullanıldığında etkisinin bulunmadığı gösterilmiştir (129,130).

Magnezyumun kan basıncı üzerine olan etkisini vasküler tonus ve reaktivite üzerinden gösterdiği ileri sürülmektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar magnezyumun çeşitli vasküler yataklarda vazodilatasyonu ve kan akımını arttırdığını, vasküler dirençte azalmaya neden olduğunu, agonist aracılı vazokonstriksiyonu azalttığını ve kan basıncını düşürdüğünü göstermiştir (34,112,131-134). Vasküler düz kasta magnezyum, kalsiyumun hücre içine girişini inhibe ederek düz kas kontraktilesinde, dolayısıyla damar tonusunda azalmaya neden olmaktadır (135,136). Bunun yanı sıra endotel fonksiyonunun düzenlenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Magnezyumun vasküler endotel hücrelerinde PGI₂ ve NO üretimini uyararak endotel aracılı vazodilatasyona katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (43,44,137). Magnezyumun vasküler fonksiyonlar üzerindeki etkilerine aracılık edebilecek diğer olası mekanizmalar ise magnezyumun antioksidan, antienflamatuar ve büyümeyi düzenleyici özelliklerini kapsamaktadır (46,138).

Endotel disfonksiyonunun esansiyel hipertansiyon patogenezinde önemli yer tuttuğu ve hipertansiyonda gelişen periferik direnç artışına katkıda bulunduğu kabul edilmektedir. Endotel disfonksiyonunun en önemli özelliklerinden birisi endotel kaynaklı NO salgısının yetersizliğidir. NO sentezinin engellenmesiyle endotel disfonksiyonu oluşturulan NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde magnezyum eksikliğinin bulunduğu gösterilmiş olmasına rağmen (123), magnezyum tedavisinin bu hipertansiyon modelinde kan basıncı üzerinde etkili olup olmadığı bilinmemektedir.

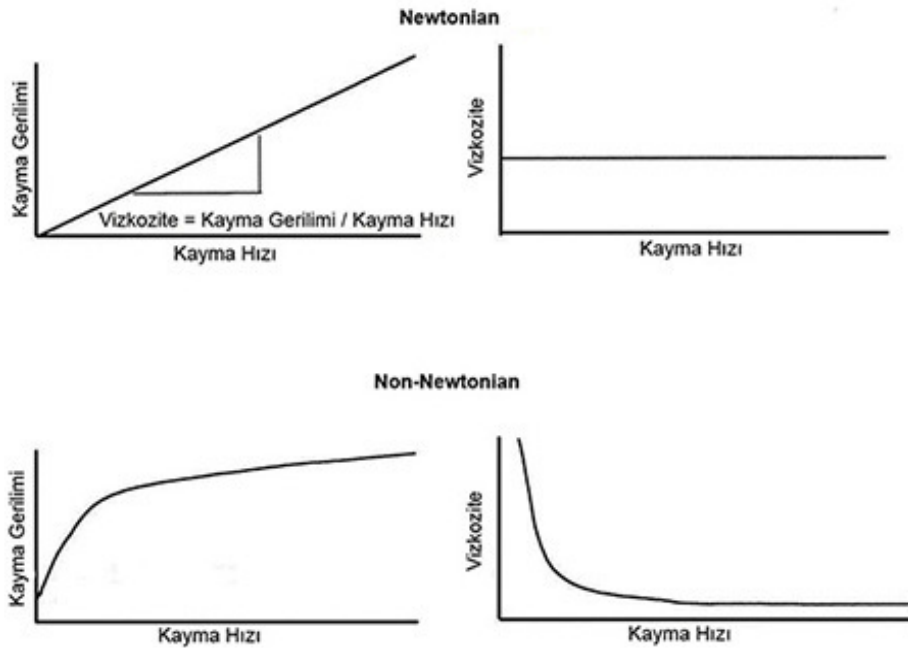
2.6. Kanın Akışkanlık Özellikleri

Kan reolojik açıdan non-Newtonien bir sıvı olarak tanımlanır. Bu tür sıvılarda kayma hızı ile kayma kuvveti arasındaki ilişki doğrusal değildir ve sıvı viskozitesi kayma hızına bağlı olarak değişir (Şekil 2.1). Kayma hızı arttıkça kan viskozitesi azalır ancak kayma hızının büyük arterlerdeki değerine (100-400 sn⁻¹) ulaşması ile birlikte, kanın akışkanlığı kayma

hızından bağımsız hale gelir kanın Newtonien davranış gösterdiği ifade edilmektedir (139-141). Diğer bir deyişle damar sistemi içinde yer alan çeşitli boyuttaki damarlarda kan akımı birbirinden farklı özellikler sergiler.

2.6.1. Büyük Damarlardaki Kan Akımı

Büyük damarlarda damar sisteminin geometrik özelliklerine, kanın fiziksel özelliklerine ve akım hızına bağımlı olarak laminar veya türbülant karakterde akım görülebilir. Sıvı tabakalarının birbiri üzerinde kayması şeklinde gerçekleşen laminar akımda hidrolik direnç oldukça düşüktür (141). Ancak kanın iki fazlı bir sıvı olduğu göz önüne alındığında, ikinci fazı oluşturan parçacıkların laminaları ne ölçüde distorsiyona uğrattığı laminalar arasındaki sürtünmeyi önemli ölçüde etkiler (142).



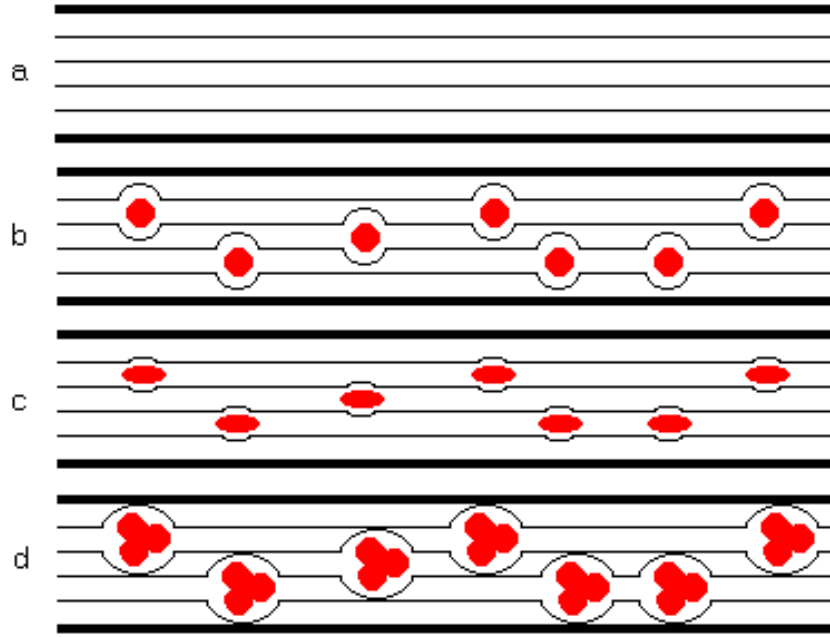
Şekil 2.1.: Newtonian ve non-Newtonian sıvılar için kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite-kayma hızı arasındaki ilişkiler (kaynak 140'dan alınmıştır).

Kanın hücrel elemanlarından oluşan ikinci fazdaki parçacıkların şekil değiştirebilme özellikleri, onların laminar akım çizgilerine oriyantasyonunu kolaylaştırır. Böylece tabakalar arasındaki sürtünme, dolayısıyla da sıvının viskozitesini azalır (139,141,143). Bunun aksine, laminalar arasında yer alan parçacıkların büyüklüğü artarsa tabakalar arasındaki sürtünme ve viskozite artar (144,145). Akım hızının yavaşlaması durumunda eritrositlerin kümelenme özelliği nedeniyle oluşabilecek agregatlar bu yolla kanı daha visköz hale dönüştürürler (145). (Şekil 2.2).

Öte yandan, damar geometrisindeki yerel değişiklikler ve kan akım hızındaki ani artışlar, kan akımının karakterini türbülant hale dönüştürebilir. Bu koşullarda akım direnci de artar (140).

2.6.2. Kapiller Kan Akımı

İnsan dolaşım sisteminde kapiller damarların 3–8 µm çapa sahip olduğu göz önüne alındığında, kapiller kan akımının iki fazlı bir sıvı sistemindeki gibi düşünülmesi olanaksızdır. Kanın hücresel elemanlarının ve plazmanın bu boyuttaki damarlardan geçişi ayrı ayrı değerlendirilmelidir. Yer yer kan hücrelerinin boyutlarından daha küçük bir çapa sahip olabilen bu damarlarda akım hızı, büyük ölçüde kan hücrelerinin şekil değiştirme yetenekleri ile ilişkilidir (146,147).



Şekil 2.2.: Plazmada içindeki eritrositlerin laminar akım çizgilerine etkileri. (a) eritrositlerin olmadığı durumda plazmanın oluşturduğu laminar akım çizgileri, (b) şekil değiştiremeyen (rijid) eritrositlerin varlığında akım çizgilerinin distorsiyonu, (d) şekil değiştirebilen eritrositlerin varlığında akım çizgilerinin azalmış distorsiyonu, (e) eritrosit agregasyonundan dolayı artmış distorsiyon (kaynak 140'dan alınmıştır).

2.7. Kanın Akışkanlığını Belirleyen Faktörler

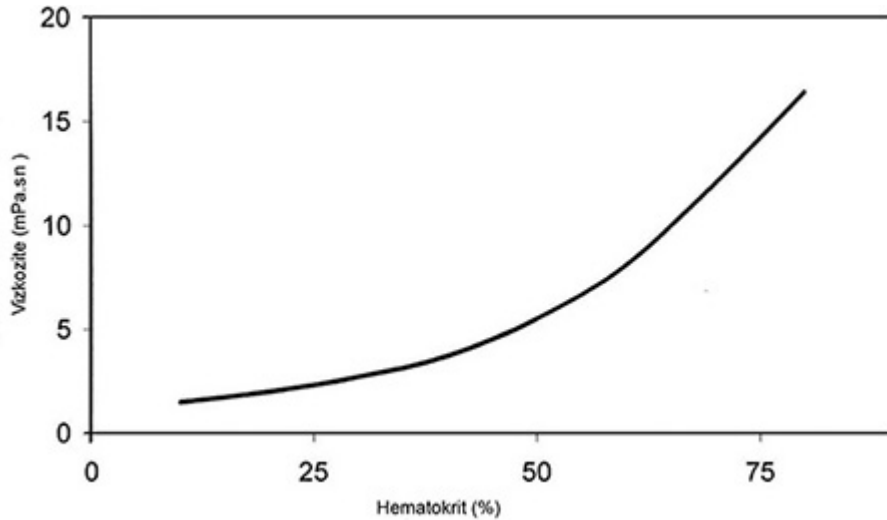
Kan dokusunun akışkanlığı temel olarak kanın hücresel elemanlarının hacimsel oranına ve reolojik özelliklerine (örneğin; plazma viskozitesi, eritrosit agregasyonu ve eritrosit deformabilitesi) bağlıdır. Ancak, kan akışı üzerine etkili olan kan dokusunun reolojik davranışları akımın meydana geldiği damarın boyutlarına ve akım koşullarına göre değişmektedir. Kan akımı ve doku perfüzyon değişiklikleri görülen durumlarda, vasküler kontrol mekanizmaları aracılığıyla damar çapı değiştirilerek kompensasyon sağlanır. Ancak damar yapısı veya vazomotor yanıt mekanizmaları patolojik süreç nedeniyle bozulmuşsa (hipertansiyon, aterosklerozis gibi) bu kompensasyon gerçekleştirilemeyebilir (14,139).

2.7.1. Plazma Viskozitesi

Plazma kandaki hücresel elemanlar için taşıyıcı görevi yaptığından, plazmanın akışkanlığında bir değişiklik olması doğrudan kan viskozitesine yansır. Viskozite kayma geriliminin kayma hızına oranı olarak tanımlanabilir (Şekil 2.3). Normal plazma viskozitesi 37°C 'de 1.10-1.35 centipoise (cp) arasında bir değere sahiptir (141). Plazma viskozitesi, plazmanın protein içeriği ile yakından ilişkilidir. Bir akut faz reaktanı olan fibrinojenin, hastalık durumlarında plazma viskozitesindeki artmaya önemli ölçüde katkıda bulunduğu kabul edilir (148).

2.7.2. Hematokrit

Laminar akım koşullarında, sıvı tabakalarının arasındaki direnci arttıran hücresel elemanların oransal miktarı, bu iki fazlı sıvının akışkanlığını belirleyen faktörlerin başında gelir. Hematokrit değeri ile kan viskozitesi arasında eksponansiyel bir ilişki vardır (139) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3.: Kan viskozitesi üzerine hematokritin etkisi (Kaynak 140'dan alınmıştır).

2.7.3. Eritrosit Agregasyonu

Durgun haldeyken insan kanındaki eritrositler rulo formasyonu olarak da isimlendirilen, birbirine yapışmış gevşek agregatlar oluştururlar. Plazmada bulunan fibrinojen ve diğer makromoleküller eritrosit agregasyonunun ortaya çıkmasında önemli rol oynar. Eritrosit agregatları sıvı akımının başlaması veya agregatlara etki eden kayma kuvvetlerinin büyümesi ile parçalanırlar (149,150).

Eritrosit agregasyonunun derecesi, eritrositleri bir arada tutan kuvvetlerle (agregan kuvvetler), eritrosit kümelerini dağıtmaya çalışan kuvvetler (disagregan kuvvetler) arasındaki denge ile yakından ilişkilidir. Ortamdaki hidrodinamik kuvvetler disagregan kuvvetlerin başında gelir. Hücre kümelerine etki eden kayma kuvvetleri büyüdükçe, kümelenme eğilimi

azalır. Bunun yanı sıra, eritrosit membranının yüzey yüküne bağlı olarak ortaya çıkan elektrostatik itim kuvvetleri ve eritrosit rijiditesi de agregasyona karşı koyan kuvvetler arasındadır (149).

Eritrosit agregatlarını bir arada tutan agregan kuvvetler ile ilgili olarak ise iki hipotez öne sürülmüştür:

- 1- Köprüleme hipotezi: Bu hipoteze göre, birbirine yakın hücrelerin yüzeylerine tutunan ve bu hücreler arasında köprüler oluşturan makromoleküller, agregatları bir arada tutar (151).
- 2- Deplesyon hipotezi: Makromoleküllerin fiziko-kimyasal mekanizmalarla eritrosit yüzeyinden uzak tutulması bir osmotik gradient ve hücrelerarası boşlukta bir sıvı hareketine neden olur. Bu sıvı hareketinin yarattığı basınç farklılıkları ise komşu hücreleri birbirine doğru iter (152,153).

Bu iki hipotez, eritrosit yüzeyine yakın bölgedeki makromolekül konsantrasyonları için birbirine zıt tahminlerde bulunur. Köprüleme hipotezi, eritrosit yüzeyine yakın bölgedeki makromolekül konsantrasyonunun süspansiyonun diğer bölümlerine göre daha yüksek olması gerektiğini savunurken, deplesyon hipotezine göre tersine, bu konsantrasyon daha düşük olmalıdır (149). Eritrosit yüzeyine komşu bölgede makromolekül konsantrasyonlarının yerel olarak doğrudan ölçülmesine yönelik çalışmalar ise başarısızlıkla sonuçlanmış olmakla birlikte, hücre elektroforezi çalışmaları deplesyon hipotezini doğrulayan ipuçları sağlamıştır (153).

Eritrosit agregasyonu hem plazmanın, hem de eritrositlerin hücresel özelliklerindeki değişimlerden etkilenir. Plazma bileşenlerinden özellikle fibrinojen konsantrasyonu eritrosit agregasyonunu etkileyen en önemli faktörlerden biridir(149). Bunun yanında diğer akut faz reaktanları, plazma globulin fraksiyonlarındaki değişimler, osmolarite ve pH değişiklikleri, hematokrit değerindeki artış da eritrosit agregasyonunu etkileyen önemli faktörler arasında yer almaktadır (146,149).

Öte yandan, eritrositlerin hücresel özelliklerindeki değişikliklerin de eritrosit agregasyonunu etkilediği yapılan bir çok çalışma ile ortaya konmuştur (149,154,155). Eritrosit morfolojisi, yüzey yükü farklılıkları, deformabilite özelliği ve membrana IgG bağlanımı gibi hücresel özelliklerin, eritrositlerin intrinsik agregasyon eğilimlerini belirgin ölçülerde değiştirebilecekleri gösterilmiştir (150). Hücresel özelliklerin, eritrositlerin intrinsik agregasyon eğiliminde bireyler arası, hatta türler arasında da belirgin farklılıklar oluşturabilecek düzeylerde etkili olabildikleri, bazı durumlarda patolojik süreçlerde gözlenen daha yüksek düzeylerde agregasyon değişikliklerinden sorumlu olabilecekleri anlaşılmaktadır (150).

Hidrodinamik kuvvetler küçüldükçe, eritrositler geniş diskoid yüzeylerinden birbirlerine yaklaşarak kümelenir ve eritrosit agregatlarını

oluşturur (144). Kan akışkanlığının yeterli olduğu durumlarda eritrositler plazma içerisinde bir sıvı damlası gibi davranırken, akım hızının yavaşlaması halinde eritrosit agregatları oluşur. Eritrosit agregatları kan akımı içerisinde sıvı tabakaları arasındaki sürtünme kuvvetini ve dolaylı olarak kanın viskozitesini artırır (145). Eritrosit agregasyonu plazma ve eritrosit özelliklerine paralel olarak değişkenlik gösterir. Plazma fibrinojen konsantrasyonu eritrosit agregasyonu üzerinde çok önemli rol oynar (146,147). Hematokrit değeri ve eritrosit membranının fizikokimyasal özelliklerindeki değişimlere ek olarak eritrositlerin deformabilitesi de eritrosit agregasyonunu etkiler (148,149).

2.7.4. Eritrosit Deformabilitesi

Eritrositlerin kan akımı sırasında kendine uygulanan kuvvetlere yanıt olarak şekil değiştirebilme yetenekleri olarak tanımlanan deformabilite eritrositlerin kendi çaplarından daha küçük kapillerlerden geçebilmelerini sağlar. Bu şekilde solunum gazlarının eritrositlerce taşınması ve dokularda gaz değişimi yapılması mümkün olur (156). Bikonkav disk şeklinde olan eritrositler küresel bir yapıya dönüştükçe şekil değiştirebilme yetenekleri azalır. Eritrosit deformabilitesini eritrosit geometrisinin yanı sıra sitoplazma viskozitesi ve eritrosit membranının reolojik özellikleri belirler (147,156,157). İç ortamın ozmolaritesinde ve hücre içi kalsiyum değişikliklerinde, hemoglobinopati ile birlikte seyreden hastalıklarda ve dolaşım sistemini ilgilendiren patolojiler başta olmak üzere çeşitli klinik tablolarda eritrosit deformabilitesi değişmektedir (158).

Eritrositlerin normal bikonkav-disk şeklinin korunması deformabilite yeteneği açısından büyük önem taşır. Bu özel şekil hücreye, yüzey alanını genişletmeksizin şekil değiştirme olanağı sağlar. Eritrosit geometrisinde meydana gelen bozukluklar deformabilite yeteneğinde önemli azalmalara neden olur (157,159).

Eritrosit sitoplazmasının akışkanlığı da eritrositlerin mekanik özelliğini etkileyen faktörler arasındadır. Sitoplazma akışkanlığını etkileyen en önemli faktör ise hemoglobin konsantrasyonudur (157,160). Normal bireylerde eritrositlerin hemoglobin konsantrasyonu yaklaşık 27-37 g/dL arasında ve sitoplazmik viskozite 5-15 centipoise civarındadır. Bu normal sınırlar içerisinde, sitoplazmik viskozitenin eritrosit deformabilitesi üzerindeki etkisi ihmal edilebilecek düzeyde olmakla birlikte, hemoglobin konsantrasyonunun artması durumunda sitoplazmik viskozitede büyük artışlar meydana gelir. Olgun eritrositlerde hemoglobin sentezi ve yıkımı olmadığından hemoglobin konsantrasyonundaki değişimler hücrenin sıvı içeriğindeki değişimlere bağlı olarak gelişir (161).

Eritrosit membranının esnek yapısı, dış kuvvetlerin etkilerinin sitoplazmaya aktarılmasına ve eritrositlerin bütün içerikleriyle birlikte akıma katılmalarına olanak sağlar. Eritrosit membranının elastik yapısı da bu şekil değiştirebilme özelliğine önemli katkıda bulunur [66]. Şekil değişimine neden olan etkinin ortadan kalkması ile hücrenin yeniden diskoid şekline geri

dönmesi, bu özelliğin hemen bütünüyle membran ve membran iskeletine bağlı olduğuna işaret eder (157,159).

2.8. Kanın Akışkanlığının Hipertansiyon İle İlişkisi

Kanın akışkanlığı ve hipertansiyon arasındaki ilişkiye işaret eden birçok delil bulunmasına rağmen hipertansif bireylerdeki hemoreolojik değişikliklerin sistemik arteriyel hipertansiyonun nedeni ya da sonucu olduğu konusu tartışmalıdır (14). Hipertansiyonda kan akışkanlığı bozuklukları konusunda ilk gözlem tedavi edilmemiş hastalarda kan viskozitesinin önemli düzeyde artmış olmasıdır (11). 1930'lu yıllardan bugüne kadar hipertansif bireylerde gelişen birçok hemoreolojik bozukluk literatürde yer almıştır. Letcher ve ark. (12) tedavi almamış 49 esansiyel hipertansiyonlu hastayı normal bireyler ile kıyaslamış, tam kan viskozitesi ile kan basıncı arasında sıkı bir korelasyon olduğunu, tam kan ve plazma viskozitesi ile hematokrit ve fibrinojen düzeylerinde artış olduğunu bildirmiştir. Farklı çalışma grupları tarafından yapılan gözlemler bu bilgileri doğrulamıştır (13,162). Fowkes ve ark.(163) tarafından geniş bir populasyon üzerinde yapılan bir araştırmada kan viskozitesi ve kan basıncı arasındaki korelasyon doğrulanmıştır. Bu çalışmada sistolik kan basıncı kan viskozitesi, plazma viskozitesi ve fibrinojen düzeyi ile, diyastolik kan basıncı ise kan viskozitesi ve plazma viskozitesi ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, hipertansif hastalarda eritrosit agregasyon indeksinde %26, önceden mevcut eritrosit agregatlarının ayrılabilmesi için gerekli kayma hızında %20 artış olduğu gösterilmiştir (164).

Hipertansiyon ile kanın akışkanlık özellikleri arasındaki ilişkiyi inceleyen ve çeşitli deneysel hipertansiyon modellerinde yapılan çalışmalar da mevcuttur. Sıçanlarda oluşturulan 2K-1C, DOCA ile indüklenen hipertansiyon modeli ve L-NAME hipertansiyon modellerinde eritrosit agregasyon indeksinin arttığı, eritrosit deformabilitesinin ise yalnızca L-NAME hipertansiyon modelinde bozulduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada plazma fibrinojen düzeyinin de 2K-1C ve L-NAME hipertansiyon modelinde yükseldiği bildirilmiştir (16). L-NAME hipertansiyon modelinin kullanıldığı bir başka çalışmada da yine eritrosit agregasyon indeksinin arttığı ve deformabilitesinin azaldığı gösterilmiştir (17). Aynı zamanda, insanlardaki primer ya da esansiyel hipertansiyonun modeli olan SHR modelinde de, eritrosit agregasyonunda belirgin artış olduğu ve bu artışın hem hipertansiyon gelişimine hem de hipertansiyona bağlı çeşitli komplikasyonların oluşmasına katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (165,166,167).

Hipertansiyona kan akışkanlığındaki değişikliklerin eşlik ettiğine dair kanının yaygınlığına rağmen, hipertansiyon tedavisiyle bu değişikliklerin düzeliyor düzelenmediği konusu hala netlik kazanmamıştır. Hipertansif hastalarda kan basıncının tedavi sonrası normalizasyonu ile kan akışkanlığı bozukluklarının hangi ölçüde düzeldiğini araştıran çalışmalar bulunmakla birlikte bu çalışmaların sonucu genellikle çelişkilidir. Rosenson ve Hafner (18)'in, 13 hipertansif hastaya 3 ay süresince diyastolik kan basıncı 90 mmHg altında tutacak dozlarda, bir ACE inhibitörü olan Ramipril tedavisini uyguladığı çalışmada tam kan viskozitesi, plazma viskozitesi, serum

viskozitesi ve fibrinojen düzeyleri incelenmiş, ancak bunların hiçbirinde önemli bir düzelme tespit edilememiştir. Bu bulguların aksine, Muravyov ve ark. (19) 3 aylık Ramipril tedavisi sonrası 22 hastada hematokrit (%2), tam kan viskozitesi (%17), plazma viskozitesi (%10), eritrosit agregasyonu (%13) ve fibrinojen düzeylerinde azalma bildirmiştir.

Kan basıncının beta bloker ilaçlar ile kontrol altına alındığı hastalarda gözlenen hemoreolojik değişiklikler konusundaki bulgular açısından da çalışmalar arasında farklılıklar bulunmaktadır. Diyastolik kan basıncını 90 mmHg altında tutacak dozlarda 4 ay boyunca metoprolol tedavisi verilen 16 hipertansif bireyde tedavi sonrası hematokrit, tam kan viskozitesi ve plazma viskozitesinde anlamlı azalma olduğu ancak eritrosit agregasyonunda değişiklik olmadığı bildirilmiştir (168). Ancak, 2 yıl boyunca beta bloker kullanan 39 bireyde yapılan bir başka çalışmada araştırmacılar tam kan viskozitesinde değişiklik oluşmadığını ve hatta eritrosit rijiditesindeki artışın daha da belirginleştiğini bildirmişlerdir (169). Kalsiyum kanal blokerlerinin kısa süreli kullanımı sonucu hemoreolojik düzelme olduğunu veya değişiklik olmadığını bildiren çalışmaların yanı sıra ajanların uzun süreli kullanımının hipertansiyona bağlı gelişen hemoreolojik bozuklukların seyrini engellemediği gösterilmiştir (168,169).

Mevcut bilgilerin ışığında hipertansif hastalarda tam kan ve plazma viskozitesinde artış, eritrositlerin rijiditesindeki artış ile birlikte filtrasyon-agregasyon-disagregasyon kapasitelerinde değişiklikler, hematokrit ve plazma fibrinojen düzeyinde artış olduğu kabul görmektedir. Bu hemoreolojik değişikliklerin hipertansiyon sırasında vasküler değişikliklere neden olması muhtemeldir. Ancak, kan basıncının hedeflenen değerlere ulaşmasını sağlarken aynı zamanda gelişmekte olan hemoreolojik bozuklukları geri döndürdüğü kesin olarak gösterilmiş bir ajan bulunmamaktadır.

2.9. Kanın Akışkanlığının Magnezyum Düzeyi İle İlişkisi

Plazma ve kan hücrelerinin reolojik özellikleri içerisinde buldukları ortamın fiziksel ve kimyasal durumu, metabolizma ve hormonlar tarafından etkilenir. Asit/baz dengesi, ozmolalite, oksidatif stres, lipit içeriği ve plazma protein içeriği en iyi tanımlanmış ana etkenlerdir. Öte yandan dolaşımda yer alan divalent katyonlardan magnezyum, demir ve çinkonun da eritrosit reolojisi üzerine etkili oldukları vurgulanmıştır (170). Yapılan in-vitro çalışmalarda, magnezyumun eritrosit rijiditesini azalttığı ve bunu muhtemelen kalsiyum antagonisti etkileri yoluyla gerçekleştirdiği gösterilmiştir (171,172)

Magnezyum düzeyinin eritrosit deformabilitesi üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar, preeklampsi nedeniyle intravenöz magnezyum tedavisi alan gebelerde gösterilmiş, preeklampside azalan eritrosit deformabilitesinin magnezyum tedavisi ile düzelme gösterdiği saptanmıştır (173). Saptanan bu etki yine büyük oranda magnezyumun kalsiyum antagonisti etkilerine bağlanmaktadır. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonundaki artışın tübülün polimerizasyonunu uyararak eritrosit deformabilitesini azalttığı, magnezyum replasmanı sonucu hücre içi kalsiyum artışına bağlı tübülün

polimerizasyonunun antagonize edilmesiyle eritrosit deformabilitesinin düzelebileceği belirtilmektedir (174). Ayrıca, kalsiyum pompa aktivitesindeki artışın neden olduğu ATP kaybının da eritrosit deformabilitesinde azalmaya katkıda bulunduğu bildirilmiştir (175). Magnezyum replasmanı kalsiyum pompalarının stimülasyonunu engelleyerek hücre içi ATP düzeyinin ve dolayısı ile deformabilitenin korunmasına yardımcı olur.

Magnezyum hücrel membranlardan iyon transportunun regülasyonu için çok önem taşıyan bir katyondur. Na-K ATPaz fosforilasyonu ve K-Cl kotransportu için gereklidir (176, 177). Orak hücre anemili transgenik sıçanlarda oral magnezyum tedavisi sonrası eritrositlerde dehidratasyonun engellendiği, hemogloblin konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir (178). Diyabetik sıçanlarda ise, oral magnezyum tedavisinin eritrosit içi magnezyum içeriğini arttırdığı ve kan viskozitesini düşürdüğü bildirilmiştir (179, 180).

2.10. Hipotez ve Amaç

Hipertansiyonda görülen en önemli bulgulardan birisi olan periferik vasküler direnç artışının vasküler yapı ve fonksiyon değişikliklerine bağlı olarak ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Bu değişimler arteriyel duvar kalınlaşması, artmış vasküler tonus ve endotel disfonksiyonunu kapsar ve birçok faktör tarafından etkilenebilir (1,2,73-75). Magnezyumun kardiyak uyarılabilirlik ve vasküler tonus üzerindeki etkileri nedeniyle hipertansiyon patofizyolojisinde önemli olabileceği vurgulanmaktadır (114,115,122). Çelişkili sonuçlar olmakla birlikte magnezyum tedavisinin kan basıncını düşürücü etkileri bazı insan çalışmaları ve deneysel hipertansiyon modellerinde gösterilmiştir (34-37,125-130). Ancak antihipertansif ajan olarak kullanılmaya aday olan magnezyumun NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde kan basıncı etkileyip etkilemediği bilinmemektedir.

Hipertansiyona eşlik ettiği bilinen değişiklikler arasında kanın akışkanlık özellikleri de yer almaktadır. Hipertansiyonda arttığı gösterilen plazma viskozitesi ve eritrosit agregasyonunun, ayrıca bozulmuş eritrosit deformabilitesinin, hipertansiyona bağlı perfüzyon bozukluklarına ve son organ hasarlanmalarına katkıda bulunabileceği bildirilmektedir (14,162-167). NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde kanın reolojik özelliklerinde bu yöndeki değişimler gösterilmiş (16,17), ayrıca çeşitli dokularda magnezyum düzeyinde azalma da tespit edilmiştir (123). Ancak magnezyum tedavisinin kanın reolojisindeki bu değişimleri nasıl etkilediği incelenmemiştir.

Magnezyumun düzenleyici rol üstlendiği çeşitli fizyolojik yollar göz önüne alındığında, magnezyum tedavisinin NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde kan basıncını düşürücü yönde etki göstermesi ve aynı zamanda kanın akışkanlık özelliklerini etkilemesi beklenebilir. Bu çalışmanın amacı, NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde oral Mg tedavisinin yüksek kan basıncı ve kanın akışkanlık özellikleri üzerine etkisinin olup olmadığını ortaya koymaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneylerin Tanımlanması ve Gruplandırma

Bu deneysel çalışmada; Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde yetiştirilen 60 adet 10 haftalık erkek Wistar sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar deney süresince sıcaklığı $23 \pm 2^\circ\text{C}$ olan ve 12 saat gün ışığı - 12 saat karanlık periyodu uygulanan bir odada tutulmuş, kısıtlanmaksızın (ad libitum) yem ve su erişimleri sağlanmış ve rasgele 6 gruba ayrılarak çalışma iki aşamada yürütülmüştür.

Aşama-I: Gelişmekte olan hipertansiyonda magnezyum kullanımı.

Deney süreci 6 hafta ile sınırlı olan bu aşamada 4 grup hayvan kullanılmıştır:

- Kontrol (K, n=10)
- Magnezyum (M, n=10)
- Hipertansiyon (H, n= 10)
- Hipertansiyon+Magnezyum (HM, n= 10)

K grubuna çalışma süresi boyunca standart sıçan yemi ve içme suyu verilirken M grubundaki sıçanlar yine standart içme suyu almış ancak %0.8 oranında magnezyum oksit (MgO) içerecek şekilde özel hazırlanmış yem ile beslenmişlerdir. Standart yem ile beslenen H grubunda hipertansiyonun oluşturulması için 25 mg/kg/gün dozunda L-NAME içme suyuna ilave edilmiş ve iki günde bir taze olarak hazırlanmıştır. HM grubundaki sıçanların ise 25 mg/kg/gün dozunda L-NAME içeren içme suyu almaları ve eşzamanlı olarak %0.8 oranında MgO içeren yem ile beslenmeleri sağlanmıştır. Bu aşamadaki uygulamalar tüm gruplar için 6 hafta süresince sürdürülmüştür.

Aşama-II: Yerleşmiş hipertansiyonda magnezyum kullanımı.

Deney süreci 12 hafta olan bu aşamada 2 grup hayvan kullanılmıştır:

- Hipertansiyon-12 haftalık (H-12, n= 10)
- Hipertansiyon+Magnezyum-12 haftalık (HM-12, n= 10)

Her iki grupta da hipertansiyon içme sularına 25 mg/kg/gün dozunda L-NAME ilave edilmesiyle oluşturulmuş ve bu uygulama 12 hafta boyunca sürdürülmüştür. H grubundaki hayvanlar standart sıçan yemi ile beslenirken, HM-12 grubundaki sıçanların ilk 6 hafta standart yem sonraki 6 hafta ise yine %0.8 oranında MgO içeren yem almaları sağlanmıştır. Deneyin bu aşaması, yerleşmiş ya da gelişmiş olan hipertansiyon durumunda, Mg'un kan basıncındaki yükselme ve/veya kanın akışkanlık özelliklerinde ortaya çıkması

beklenen değişiklikler üzerine tedavi edici etkisinin olup olmadığının incelemesi amacıyla planlanmıştır.

3.2. Kan Basıncı Ölçümü

Deneydeki hayvanların kan basınçları invazif olmayan tail-cuff yöntemi ile kuyruk arterlerinden ölçülmüştür. Kuyruğa takılan halka şeklindeki basınç probuyla alınan sinyaller MP 150 veri toplama sistemi (BIOPAC Systems, CA USA) ve MAY-BPHR 9610-PC (Commat Ltd, Ankara) ünitesi aracılığıyla bilgisayara aktarılmış ve ölçümler Acknowledge paket programı ile çizdirilen basınç traseleri üzerinden yapılmıştır. Tüm hayvanların deney öncesibazal kan basıncı değerleri saptandıktan sonra aşama-I'de yer alan gruplarda haftalık, aşama II'de yer alan gruplarda ise 2 haftada bir yapılan ölçümler ile kan basıncı takibine deney sonuna kadar devam edilmiştir.

Kuyruktaki arterlerden geçen kanın kısa bir süreliğine kesilmesi için hava ile şişirilebilen, halka şeklindeki bir manşet (cuff) kullanılmış, belli bir basınç oluşturulacak şekilde şişirilen manşetin otomatik olarak yavaşça söndürülmesi ile kan akımının tekrar başlaması sağlanmıştır. Bu sırada, yine halka şeklindeki basınç probuyla belirlenebilen pulsasyonun basınç değeri saptanmıştır. Eter inhalasyonu ile sedatize edilmeleri amacıyla, eter emdirilmiş pamuk içeren özel cam fanusta 3-5 dakika bekletilen hayvanlar ölçüme alınmış, periyodik ölçümler sırasında her sıçan için en az 3 basınç trasesi kaydedilmiş ve belirlenen değerlerin ortalamasından alınarak o günkü kan basıncı değerleri saptanmıştır.

3.3. Biyokimyasal ve Reolojik Analizler İçin Kan Örneklerinin Alınması, Hazırlanması ve Saklanması

Abdominal aortadan Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA; Sigma Chemical Co, St Louis, MO ABD, 1.5 mg/ml) içeren 10 ml hacmindeki enjektör ile kan alınarak sıçanlar kansızlaştırma yöntemi ile feda edilmiştir. Kan alma işleminin hemen ardından enjektöre alınan kanın 4 ml'si tam kan ve plazma viskozitesi, eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu ölçümleri ve tam kan sayımı için kullanılmak üzere ayrılmıştır. Bu ölçümler kan alma işleminin ardından ve kan bekletilmeden gerçekleştirilmiştir. Deformabilite ve agregasyon ölçümleri için tam kan örneğinin hematokriti % 40 olarak ayarlanmıştır.

Kalan kan test tüpüne konularak 5 dakika boyunca 2700 rpm hızında santrifüj edilmiş, santrifüj sonrası elde edilen plazma, fibrinojen ve magnezyum düzeylerinin analizinde kullanılmak üzere (-) 20°C'de saklanmıştır. Plazma ayrıldıktan sonra kalan eritrosit paketinden 20 µl ayrılarak hücre içi serbest kalsiyum ve magnezyum ölçümleri için kullanılmış ve ölçümler deney günü gerçekleştirilmiştir. Kalan eritrosit paketi, total eritrosit magnezyum düzeylerinin ölçümünde kullanılmıştır.

3.4. Biyokimyasal Parametreler

3.4.1. Plazma ve Eritrosit Magnezyum Düzeyi Ölçümü

Plazma ve eritrosit total magnezyum düzeyleri Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (Varian AA280FS Fast Sequential Atomic Absorbtion Spectrometer) kullanılarak ölçülmüştür.

3.4.2. Plazma Fibrinojen Düzeyi Ölçümü

Plazma fibrinojen düzeyi rat fibrinojen ELİZA kiti (Assaymax, catalog no: ERF1040-1, Assaypro LLC, St. Charles, MO 63304) kullanılarak Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında ölçülmüştür. Bu kit enzim-bağlı immünosorbent ölçüm yaparak plazmada sıçan fibrinojeninin tespit edilmesi için tasarlanmıştır.

Sıçan fibrinojenine spesifik poliklonal antikor ile kaplanmış 96 adet kuyucuk içeren mikrolate içerir (181). Metod standartlar ve plazma örnekleri içerisindeki sıçan fibrinojeni ile immobilize sıçan fibrinojeni ve streptavidin peroksidaz konjugatı tarafından yüzeyi kapatılmış biyotinile rat fibrinojeninin kompetisyonuna dayanmaktadır. İşlem sonunda bağlanmamış olan tüm materyal yıkama yoluyla atılmıştır. Peroksidaz enzim substratı eklenmesi ile renk oluşumu durdurulmuş, renk yoğunluğu 450 nm'de absorbansı ölçen bir mikrolate okuyucu ile değerlendirilerek plazma fibrinojen düzeyi hesaplanmıştır.

3.4.3. Serbest Kalsiyum Düzeyi Ölçümü

Eritrosit içi serbest kalsiyum düzeyi ölçümü Ca^{+2} indikatörü olarak Fluo-4, AM (Invitrogen) kullanılarak spektrofotometrik yöntemle gerçekleştirilmiştir (182). Bağlı halde bulunan indikatör 485 nm (eksitasyon) dalga boyunda uyarıldığında 515 nm (emisyon) dalga boyunda ışımaya vermekte ve bu ışımaya yoğunluğu spektroskop yardımıyla tespit edilebilmektedir.

Ca^{+2} konsantrasyonu ölçümü için tam kan örnekleri 2700 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve plazma ayrılarak eritrosit paketi elde edilmiştir. Eritrosit paketi daha sonra 2 kez HEPES solüsyonu ile yıkanmıştır. Ardından eritrositler yine HEPES solüsyonu içerisinde ve yoğunluğu 1/1000 olacak şekilde resüspanse edilmiştir. Elde edilen süspansiyonlardan ışık mikroskopu kullanılarak eritrosit sayımı yapılmış ve eritrosit yoğunluğu 15 milyon hücre/ml olacak şekilde 1 ml'lik süspansiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonların içerisine 1µM konsantrasyonda olacak miktarda Fluo-4 eklenmiştir. İndikatörün eklenmesinin ardından örnekler önceden 37 °C'ye ayarlanmış su banyosu içerisinde ve karanlık ortamda 30 dak. süresince inkübe edilmiştir. İnkübasyonun hemen ardından örnekler iki kez 2500 rpm'de 5 dak. boyunca HEPES solüsyonuyla yıkanarak hücre içerisine girmeyen indikatör ortamdan uzaklaştırılmıştır. Son yıkamanın ardından örneklerin hacmi HEPES solüsyonu kullanılarak 3 ml'ye tamamlanmış ve spektrofotometrede 485 nm eksitasyon ve 515 nm emisyon dalga boylarında hücre içi serbest Ca^{+2} ile bağlanmış olan Fluo-4 indikatörünün floresan yoğunluğu belirlenmiştir.

Her bir örnekte bazal, maksimum ve minimum değerlerin elde edilmesi amacıyla her biri 200 ms süren 3 ardışık ölçüm yapılmıştır. Yapılan bazal ölçümün ardından maksimum değer saptanması için taze olarak hazırlanmış olan % 10'luk Triton-X'ten 25 µl örneğin içerisine eklenmiş ve maksimum floresan yoğunluğu elde edilmiştir. Bu işlemin ardından minimum değer elde edilmesi amacıyla yine taze olarak hazırlanan 200 mM EDTA'dan 150 µl örnek içine eklenmiştir.

Elde edilen floresan yoğunluğu değerlerinden aşağıdaki formül kullanılarak her bir örnek için hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu belirlenmiştir.

$$[Ca]_i = K_d \times (F - F_{min}) / (F_{max} - F)$$

K_d = Ayrışma sabiti (345 nM)

F = Bazal floresan yoğunluğu

F_{max} = Maksimum floresan yoğunluğu

F_{min} = Minimum floresan yoğunluğu

3.4.4. Serbest Magnezyum Düzeyi Ölçümü

Eritrosit içi serbest magnezyum düzeyi Spektroflorometrik yöntem ile ve Mg^{+2} indikatörü olarak Mag-FURA-2, AM (Invitrogen) kullanımıyla gerçekleştirilmiştir (183). Bağlı halde bulunan boya 340 nm dalga boyunda eksitasyon verirken bağlı olmayan boya 380 nm'de maksimum eksitasyon vermektedir. Her iki durumda da emisyon dalga boyu 510 nm olup bu dalga boyunda ışımaya vermekte ve bu ışımaya yoğunluğu spektroflorometrik olarak tespit edilebilmektedir.

Eritrosit içi Mg^{+2} düzeylerinin ölçümü için tam kan örnekleri 2700 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve plazma ayrılarak eritrosit paketi elde edilmiştir. Eritrosit paketi daha sonra 2 kez HEPES solüsyonu ile yıkanmıştır. Ardından eritrositler yine HEPES solüsyonu içerisinde ve yoğunluğu 1/1000 olacak şekilde resüspanse edilmiştir. Elde edilen süspansiyonlardan ışık mikroskobu kullanılarak eritrosit sayımı yapılmış ve eritrosit yoğunluğu 15 milyon/ml olacak şekilde 1 ml'lik süspansiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonların içerisine 4 µM konsantrasyonda olacak miktarda Mag-FURA eklenmiştir. İndikatörün eklenmesinin ardından örnekler önceden 37 °C'ye ayarlanmış su banyosu içerisinde ve karanlık ortamda 30 dak. süresince inkübe edilmiştir. İnkübasyonun hemen ardından örnekler iki kez 2500 rpm'de 5 dak. boyunca HEPES solüsyonuyla yıkanarak hücre içerisine girmeyen indikatör ortamdan uzaklaştırılmıştır. Son yıkamanın ardından örneklerin hacmi HEPES solüsyonu kullanılarak 3 ml'ye tamamlanmış ve spektrofluometrede 340 ve 380 nm eksitasyon ve 510 nm emisyon dalga boylarında hücre içi serbest Mg^{+2} ile bağlanmış olan Mag-FURA indikatörünün floresan şiddeti belirlenmiştir. Sonuçlar 340 nm'deki floresan emisyonunun 380 nm'deki floresan emisyonuna oranlanmasıyla verilmiştir.

3.4.5. Tam Kan Sayımı

Tam kan örneklerinde, hematokrit (Htc), ortalama eritrosit hacmi (OEH) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (OEHK) elektronik bir hematoloji analizörü (Micros, ABX Co, France) kullanılarak saptanmıştır.

3.5. Reolojik Parametreler

3.5.1. Tam Kan ve Plazma Viskozitesi

Tam kan ve plazma viskozite ölçümleri bir rotasyonel viskometre ile (Brookfield, DVII-Pro viscometer, Massachusetts, USA) 37°C sıcaklıkta, 10 rpm hızında gerçekleştirilmiştir.

3.5.2. Eritrosit Agregasyonu

Hazırlanan tüm kan örneklerin agregasyon özellikleri lazer ışık-geri saçılımı (LORCA; RR Mechatronics, Hoorn, Hollanda) yöntemi ile analiz yapan bir cihaz yardımıyla değerlendirilmiştir. Bu sistem, aralarında 0.3 mm boşluk kalacak şekilde birbirine uyan iki cam silindirden oluşan bir viskometre sisteminden oluşmaktadır. Hazırlanan kan örneklerinden yaklaşık 1 mL'si iki cam silindir arasındaki boşluğa yerleştirilmiştir. Kan örneği 800 sn⁻¹ kayma hızında 10 saniye hareket ettirilmiştir. Kan örneği içerisindeki eritrosit agregatlarını parçalayan ve disagregasyon olarak tanımlanan bu hareketten sonra iç tarafta silindirde bulunan diyot aracılığıyla kan örneğine gönderilen ışık demetinin geri yansımaları 120 saniye boyunca bilgisayar tarafından kaydedilmiştir. Sisteme yerleştirilen eritrosit süspansiyonunda agregasyon sürecinde ışık yansımadaki değişimleri izleyerek, bilgisayar kontrollü sistem tarafından eritrosit agregasyonunu yansıtan bir dizi parametre hesaplanmıştır. Bu parametreler eritrosit agregasyonunun derecesi (agregatlardaki ortalama eritrosit sayısı) yanında agregasyonun zaman seyri ile ilgili bilgileri de içermektedir. Tüm ölçümler 37°C sıcaklıkta yapılmıştır.

3.5.3. Eritrosit Deformabilitesi

Eritrosit deformabilitesi bir ektasitometre (LORRCA, RR Mechatronics, Hoorn, The Netherlands) kullanılarak, çeşitli sıvı kayma kuvvetlerinde lazer difraksiyon analizi ile değerlendirilmiş, ölçümler 37°C 'de yapılmıştır. İlk olarak eritrositler, izotonik fosfat tamponu (PDF) ile konsantrasyonu %5, viskozitesi ise 24cp olacak şekilde hazırlanmış PVP-360 (polivinylpyrolidone, Sigma, St. Louis, MO, USA) çözeltisi içinde yaklaşık 1/200 dilüsyonda süspansiyon haline getirilmiştir. Bu süspansiyonun yaklaşık 1 ml'si aralarında 0.3 mm boşluk kalacak şekilde birbirine uyan 2 cam silindirden oluşan bir viskometri sistemine yerleştirilmiştir. Ardından iki cam silindirin arasındaki boşluğa doldurulan süspansiyon dışındaki cam silindirin sistemi kontrol eden bilgisayar tarafından uygun kayma kuvvetlerini oluşturmak üzere hesaplanan bir hızla döndürülmesiyle bu kuvvetlerin etkisi altında bırakılmıştır. Belirlenen aralıktaki kayma kuvvetlerini oluşturacak dönme hızları bilgisayar tarafından izotonik fosfat tamponu-PVP çözeltisinin viskozitesi de dikkate alınarak hesaplanmıştır. Bu sırada sabit silindirin içinde yer alan bir lazer kaynağından çıkan ışın eritrosit süspansiyonuna ulaşmakta ve sonra bir ekran üzerine yansıyan difraksiyon paterni süspansiyondaki eritrositlerin şeklini ve dönme

hareketlerinin yarattığı akıma orientasyonlarını yansıtmaktadır. Artan kayma kuvvetlerine paralel olarak, dairesel bir formdan elipsoid forma dönüşümün derecesi ile eritrositlerin şekil değiştirme yetenekleri (deformabilitesi) arasında doğru orantı bulunmaktadır.

Deformabilite ölçümlerinde öncelikle elongasyon indeksi (EI) hesaplanmıştır. Bunun için elipsoid difraksiyon paterninin uzun (A) ve kısa (B) eksenlerinin uzunluklarının bilgisayar tarafından saptanmasıyla elde edilen değerler kullanılmıştır. ($EI = \frac{A-B}{A+B}$). EI değerleri 9 kayma stresi arasında (0.3-30Pa) ölçülmüştür. Bu değerler kullanılarak her örnek için maksimum elongasyon indeksinin yarısı kadar şekil değiştirmeye neden olan kayma kuvveti ($SS_{1/2}$) LineaWeaver-Burke analizi uygulanarak hesaplanmış ve sonuçlar $SS_{1/2}$ olarak sunulmuştur.

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için GraphPad Prism programı kullanılmıştır. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Kan basıncı düzeylerinin değerlendirilmesinde tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi ve Bonferoni Post-Hoc testi kullanılmıştır. Diğer parametrelerin istatistiksel karşılaştırmaları, 6 haftalık deney gruplarında (K, M, H, HM) tek yönlü varyans analizi ve ardından Newman Keuls Post-Hoc testi kullanımıyla, 12 haftalık grupların (H-12, HM-12) birbiriyle kıyaslanmasında ise Unpaired-t testi kullanımıyla yapılmıştır. $P < 0.05$ ve üzeri değerler istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlıkları, Yem ve Su Tüketimi

Deneyin sonunda alınan vücut ağırlıkları, yem ve su tüketimleri Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Her üç parametre açısından da gruplar arasında fark saptanmamıştır.

Çizelge 4.1. Deney gruplarının vücut ağırlığı, günlük yem-su tüketimi, plazma ve eritrosit magnezyum düzeyleri. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. * $p<0.05$, *** $p<0.001$; K grubundan fark, # $p<0.05$, H grubundan fark, && $p<0.01$ H-12 grubundan fark.

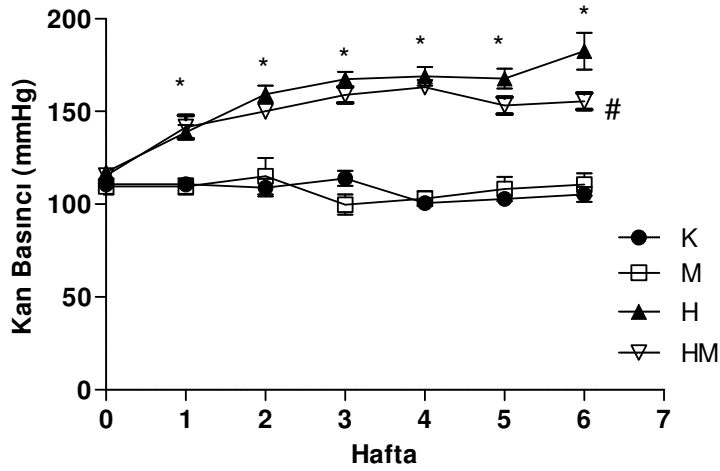
	K	M	H	HM	H-12	HM-12
Vücut ağırlığı (g)	305 \pm 5	317 \pm 11	312 \pm 12	307 \pm 17	349 \pm 14	364 \pm 17
Yem tüketimi (g/gün/sıçan)	26,8 \pm 2,8	31,9 \pm 2,8	30 \pm 2,4	35,6 \pm 2,8	37,5 \pm 2,3	44,4 \pm 4,3
Su tüketimi (ml/gün/sıçan)	36,1 \pm 3,4	51,9 \pm 7,3	46,8 \pm 4,4	50,8 \pm 8,8	48,3 \pm 8,7	50,5 \pm 8,4
Plazma magnezyum düzeyi (mmol/L)	1,5 \pm 0,09	1,9 \pm 0,12*	1,3 \pm 0,07	1,7 \pm 0,15#	1,2 \pm 0,04	1,6 \pm 0,09&&
Eritrosit magnezyum düzeyi (μmol/g Hb)	10,7 \pm 1,1	9,6 \pm 0,6	5,6 \pm 0,9***	8,4 \pm 0,5#	4,3 \pm 0,3	4,5 \pm 0,3

4.2. Kan Basıncı Düzeyleri

Çalışmanın ilk aşamasında yer alan 4 grubun (K, M, H ve HM) haftalık olarak yapılan kan basıncı ölçümlerinin sonuçları Şekil 4.1’de sunulmuştur. H grubunda L-NAME kullanımını takiben ilk haftadan itibaren kan basıncı düzeyleri K grubuna kıyasla önemli düzeyde artış göstermiş ve bu artış deney süresi olan 6 hafta boyunca da devam etmiştir ($p<0.001$). HM

grubunda ilk 5 hafta boyunca kan basıncı düzeyleri H grubu ile benzer bulunurken 6. haftada önemli düşüş olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).

Çalışmanın ikinci aşamasında yer alan H-12 ve HM-12 gruplarının 12 hafta süresince 2 haftada bir ölçülen kan basıncı değerleri ise Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Altıncı haftada Mg tedavisine başlanan HT-12 grubunun kan basıncı değerleri tedavinin ilk haftalarında H-12 grubundan önemli bir fark göstermezken 12. haftada önemli düşüş sergilemiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.1. Altı haftalık deney gruplarının deney süresince ölçülen haftalık kan basıncı değerleri. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. * $p<0.001$; K grubundan fark, # $p<0.01$, H grubundan fark.

Çizelge 4.2. On iki haftalık deney gruplarının deney süresince 2 haftada bir ölçülen kan basıncı değerleri. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. # $p<0.01$; H-12 grubundan fark.

	Haftalar						
	0	2	4	6	8	10	12
H-12	111,7 \pm 2,6	125,2 \pm 3,2	143,4 \pm 5,6	163,4 \pm 8,1	166,7 \pm 11,7	169,1 \pm 6,6	170,3 \pm 5,7
HM-12	123,2 \pm 6,0	143,8 \pm 5,0	156,9 \pm 8,1	160,3 \pm 8,2	159,6 \pm 4,6	145,6 \pm 6,4	134,5 \pm 4,1 [#]

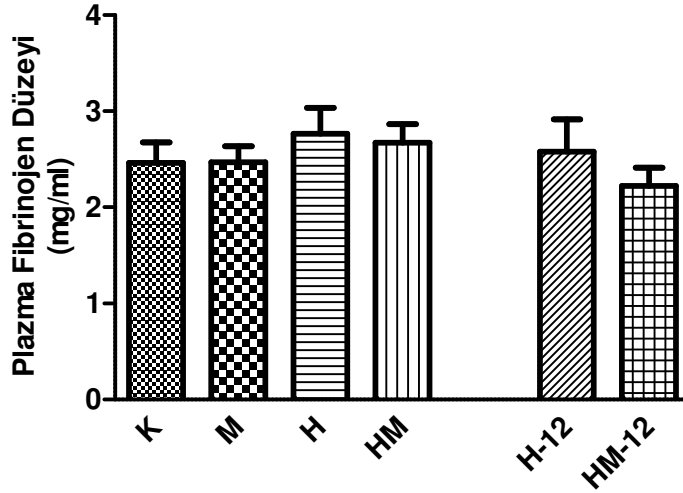
4.3. Biyokimyasal Parametreler

4.3.1. Plazma ve Eritrosit Magnezyum Düzeyleri

Tüm grupların plazma ve eritrosit magnezyum düzeyleri Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Plazma magnezyum düzeyleri M grubunda K grubuna, HM grubunda ise H grubuna kıyasla önemli artış göstermiştir ($p<0.05$). Total eritrosit magnezyum düzeylerinde H grubunda K grubuna kıyasla önemli azalma ($p<0.001$), HM grubunda ise H grubuna kıyasla önemli artış saptanmıştır ($p<0.05$).

4.3.2. Plazma Fibrinojen Düzeyleri

Tüm grupların plazma fibrinojen düzeyleri birbirine benzer bulunmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Plazma fibrinojen düzeyleri. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir

4.3.3. Serbest Kalsiyum Düzeyleri

Eritrosit içi kalsiyum konsantrasyonları Şekil 4.3'de görülmektedir. Kalsiyum konsantrasyonları hem 6 hem 12 haftalık gruplarda birbirine benzer bulunmuştur.

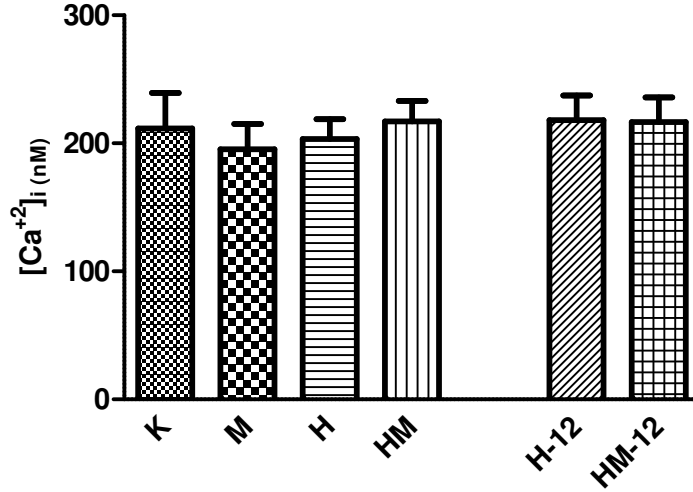
4.3.4. Serbest Magnezyum Düzeyleri

Eritrosit içi magnezyum düzeyleri 6 haftalık deney gruplarında birbirinden farksız iken HM-12 grubunda H-12 grubuna kıyasla önemli olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$, Şekil 4.4).

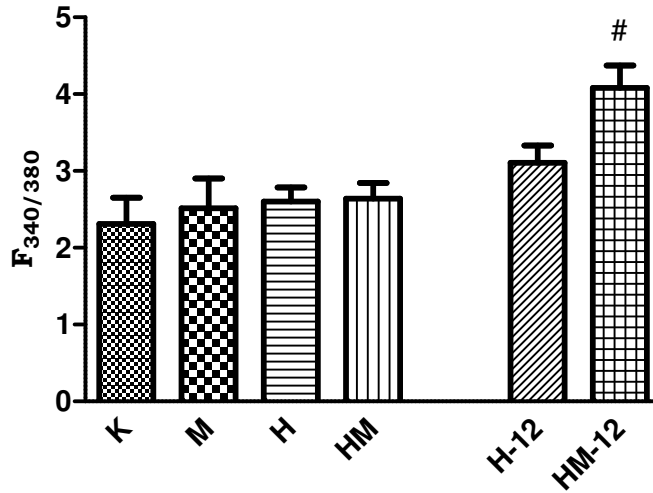
4.3.5. Tam Kan Sayımı

Tüm grupların ölçülen Htc, OEH ve OEHK değerleri Çizelge 4.4'de gösterilmiştir. Htc ve OEH değerleri H grubunda K grubuna kıyasla önemli

artış göstermiş ($p<0.05$, $p<0.01$) ancak magnezyum tedavisi bu artışlar üzerine etkili olmamıştır. OEH ve OEHK değerleri açısından 12 haftalık gruplar arasında önemli bir fark saptanmazken, HM-12 grubunun Htc değerleri H-12 grubuna kıyasla düşük bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.3. Eritrosit içi serbest kalsiyum konsantrasyonları. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 4.4. Eritrosit içi serbest magnezyum konsantrasyonları. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. [#] $p<0.05$; H-12 grubundan fark.

Çizelge 4.3. Deney gruplarının tam kan sayımı sonuçları. Htc; hematokrit, OEH; Ortalama eritrosit hacmi, OEHK; ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. * $p<0.05$, ** $p<0.01$; K grubundan fark. # $p<0.01$; H-12 grubundan fark.

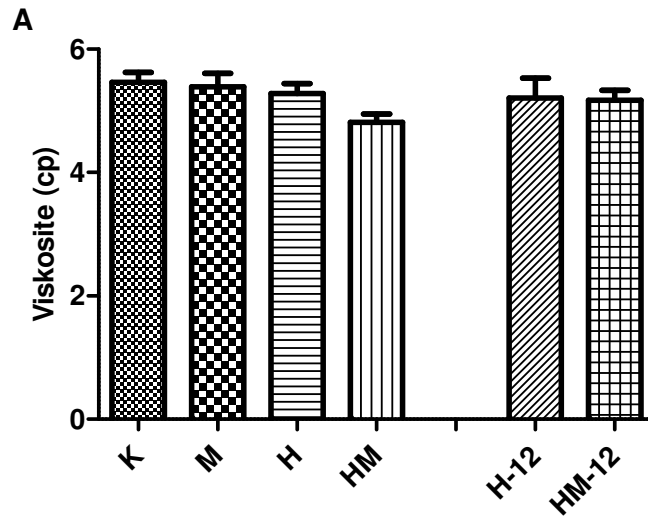
,0, 506	K	M	H	HM	H-12	HM-12
Htc (%)	41,7 \pm 0,9	42,1 \pm 1,3	45,9 \pm 0,7*	44,1 \pm 1,0	51,0 \pm 1,2	47,0 \pm 0,7#
OEH (fl)	52,4 \pm 1,4	54,4 \pm 0,5	56,7 \pm 0,6**	54,6 \pm 0,6	54,4 \pm 0,7	53,8 \pm 0,5
OEHK (g/dL)	32,2 \pm 3,4	31,9 \pm 0,4	31,5 \pm 0,2	32,7 \pm 0,5	32,5 \pm 0,3	32,6 \pm 0,5

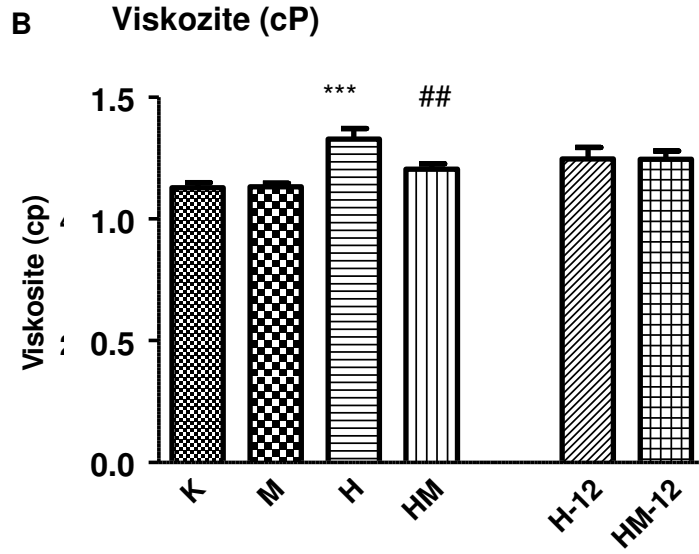
4.4. Hemoreolojik Parametreler

4.4.1. Tam Kan ve Plazma Viskozitesi

Viskometre kullanılarak 10 rpm hızında ölçülen tam kan ve plazma viskozite değerleri Şekil 4.5'de izlenmektedir. Tam kan viskozitesi açısından ne 6 haftalık ne de 12 haftalık gruplarda kendi içlerindeki kıyaslamalarda farklılık bulunmamıştır (Panel A).

Panel B'de izlenen plazma viskozitesi 12 haftalık gruplarda kendi arasında fark göstermezken 6 haftalık gruplardan H grubunda K grubuna kıyasla önemli olarak yüksek bulunmuş (** $p<0.001$), Mg tedavisi alan HM grubunda ise H grubuna kıyasla önemli bir gerileme sergilemiştir (## $p<0.01$).

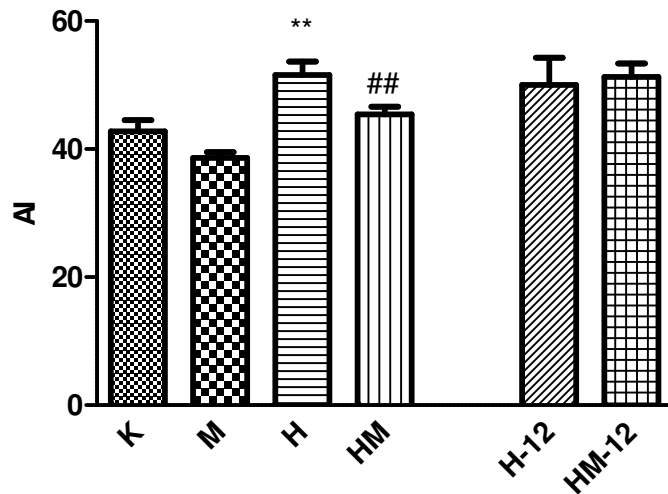




Şekil 4.5. Tam kan (A) ve plazma (B) viskozite değerleri. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. *** $p < 0.001$ K grubundan fark, ## $p < 0.01$ H grubundan fark.

4.4.2. Eritrosit Agregasyonu

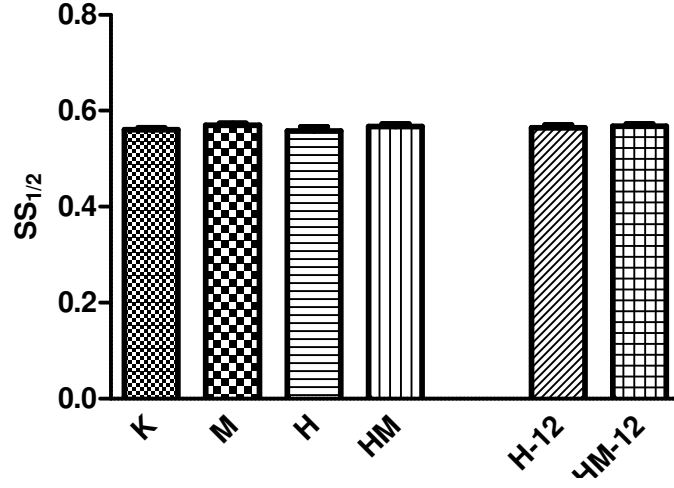
Eritrosit agregasyonunun değerlendirilmesinde kullanılan agregasyon indeksi (AI) değerleri Şekil 4.6'da görülmektedir. H grubunda K grubuna kıyasla önemli artış (** $p < 0.01$) gösteren AI'nin L-NAME ile eşzamanlı olarak Mg tedavisi alan HM grubunda H grubuna kıyasla önemli azalma (## $p < 0.01$) gösterdiği saptanmıştır. H-12 ve HM-12 gruplarının kendi aralarında yapılan kıyaslama sonucunda AI açısından fark saptanmamıştır.



Şekil 4.6. Eritrosit agregasyon indeksi (AI) değerleri. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. ** $p < 0.01$ K grubundan fark, ## $p < 0.01$ H grubundan fark.

4.4.3. Eritrosit Deformabilitesi

Tüm gruplardan yapılan ölçümler sonrasında çeşitli kayma kuvvetlerinde ölçülen $SS_{1/2}$ değerleri açısından gruplar arası fark saptanmamıştır (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Tüm grupların $SS_{1/2}$ değerleri.

TARTIŞMA

Çalışmamızın, hipertansiyon gelişimi ile eşzamanlı uygulanan ve yerleşmiş hipertansiyonda uygulanan oral magnezyum tedavisinin etkilerini inceleyen iki farklı bölümünün bulunması nedeniyle sonuçların tartışılması da bu farklı uygulamalar için ayrı ayrı yapılacaktır.

Gelişmekte olan hipertansiyonda magnezyum kullanımı

Çalışmamızın ilk aşaması, hipertansiyon gelişimi ile eş zamanlı olarak ve 6 hafta süresince verilen magnezyum tedavisinin kan basıncı ve kanın reolojik özellikleri üzerine etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde erken dönemde başlanan oral magnezyum tedavisinin yüksek olan kan basıncı üzerinde düşürücü etkisinin bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca plazma viskozitesi ve eritrosit agregasyon indeksinde hipertansiyon ile ortaya çıkan artışlar magnezyum tedavisi alan hipertansif grupta önemli azalma sergilemiştir. Hematokrit düzeyi ve OEH ise hipertansif grupta artış göstermiş ancak magnezyum tedavisi alan hipertansif grupta hipertansif sıçanlara kıyasla önemli bir fark saptanmamıştır. Tam kan viskozitesi, eritrosit deformabilitesi, eritrosit içi serbest kalsiyum ve magnezyum düzeyleri, OEHK, yem-su tüketimleri ve vücut ağırlıkları açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır.

Magnezyum eksikliği ile hipertansiyon arasındaki ilişkinin hem deneysel hipertansiyon modelleri (23-28) hem de epidemiyolojik insan çalışmalarıyla (21,22,184-187) ortaya konması, magnezyumun hipertansiyon tedavisinde yer alabileceği görüşünün gelişmesine neden olmuştur. Magnezyumun hipertansiyon tedavisinde etkili bir ajan olup olmadığı konusunda insanlar üzerinde yapılan ve sonuçları birbiriyle çelişen çalışmalar bulunsa da magnezyum alımının hipertansiyon gelişiminin önlenmesinde etkili olabileceği bildirilmektedir (106,125,186).

Magnezyumun kan basıncı üzerine olan etkisine ilişkin olarak deneysel hipertansiyon modellerinde yapılan çalışmaların sonuçları ise birbiriyle daha fazla uyum göstermektedir. DOCA-tuz hipertansiyon modeli, siklosporinle indüklenen hipertansiyon modeli ve SHR'larda magnezyum tedavisinin kan basıncını düşürücü etkileri gösterilmiştir (25,34-37). Bizim çalışmamızda NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde de oral magnezyum tedavisinin kan basıncındaki yükselmeyi azalttığı ve bu etkisinin tedavinin altıncı haftasında istatistiksel açıdan önemli olduğu gösterilmiştir. Çeşitli hipertansiyon modellerinde tedavi amaçlı kullanılan magnezyum dozu %0,6 ile % 1 arasında değişmektedir (25, 34, 37, 188). Bizim çalışmamızda kullandığımız magnezyum dozu %0,8 olarak belirlenmiş olup literatürde kullanılan doz aralığında yer almaktadır.

Hipertansiyonun önemli bir özelliği olan endotel disfonksiyonunu yansıtan ve NOS inhibisyonu ile oluşturulan L-NAME hipertansiyon modelinde plazma magnezyum düzeylerinin değişmediği, ancak eritrositlerde ve çeşitli dokularda magnezyum düzeylerinin düşük olduğu daha önce de gösterilmiştir (123). Çalışmamızda bu bulguyla uyumlu olarak H grubunda plazma magnezyum düzeyinde değişiklik olmazken, eritrosit total magnezyum düzeyleri K grubuna kıyasla düşük bulunmuştur. Oral magnezyum tedavisi ise hipertansif sıçanlarda hem plazma hem de eritrosit magnezyum seviyelerinde önemli artış oluşturmuştur. Plazma magnezyum düzeylerinde HM grubunda H grubuna kıyasla saptadığımız artış, farklı hipertansiyon modellerinde uygulanan çalışmalarla da uyum göstermektedir (25,34,37). Ancak plazma magnezyum düzeyi total magnezyum durumunun değerlendirilmesinde tek başına yetersiz olabileceğinden (189) biz çalışmamızda hem plazma hem eritrosit magnezyum düzeylerini inceledik. Eritrosit magnezyum düzeylerinin de benzer şekilde HM grubunda H grubuna kıyasla artış göstermesi DOCA-tuz hipertansiyon modelinde (25) saptanan sonuçla çelişki göstermekle birlikte SHR modelinde elde edilen sonuçlarla uyum göstermektedir (35). Öte yandan DOCA-tuz hipertansiyon modelinde hipertansif sıçanlarda eritrosit magnezyum düzeyleri normotensif sıçanlardan farklılık göstermezken, SHR modelinde bizim çalışmamızdakine benzer şekilde eritrosit magnezyum düzeyleri düşük olarak bulunmuştur (25,35). Bu çelişkili sonuçların nedeni hipertansiyon modellerinin ve dolayısıyla da patofizyolojik mekanizmalarının farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmamız magnezyum tedavisinin kan basıncını düşürücü etki oluşturmasında rol oynayabilecek mekanizmalara ilişkin deney içermemekle birlikte, magnezyumun vasküler tonus olan etkileri olası mekanizmalar arasında yer alabilir. Na^+/K^+ -ATPaz, Ca^{+2} -ATPaz gibi hücrel pompaların fonksiyonu yanı sıra hücre içi kalsiyum ve sodyum seviyeleri üzerine olan düzenleyici etkileri nedeniyle magnezyumun vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli rolü olduğuna inanılmaktadır (113,190-192). Magnezyum eksikliğinin hücre içi sodyum ve kalsiyum düzeyinde artışa yol açarak vasküler dirençte artışa ve hipertansiyona yol açabileceği ileri sürülmektedir. Ayrıca magnezyumun endotel fonksiyonu üzerine de etkili olduğu, endotel kaynaklı kasıcı ve gevşetici ajanların salgılarını etkilemek yoluyla da vasküler tonusun düzenlenmesine katkıda bulunduğu bildirilmektedir. Endotel kaynaklı kasıcı bir ajan olan endotelin-1 salgısının ve endotelin-1'e kontraktıl damar yanıtının magnezyum eksikliğinde arttığı (46,193), ayrıca endotel kaynaklı gevşetici ajanlar olan NO ve PGI2 sentezinin ise magnezyum tarafından uyarıldığı belirtilmektedir (43,44,137). Hücre dışı magnezyum konsantrasyonlarındaki yükselmeye azalmış vasküler direncin eşlik etmesi magnezyumun bu işlevlerine dayandırılmakta ve magnezyumun kan basıncını düşürücü etkileri için birer mekanizma olarak gösterilmektedir.

Periferik vasküler direncin ve doku perfüzyonunun belirleyicilerinden birisinin de kanın akışkanlık özellikleri olduğu bildirilmektedir (14). Kan

akımına gösterilen direncin vasküler tonus yanı sıra kanın reolojik özelliklerine de bağlı olmasında kanın basit bir sıvı olmayışının önemi büyüktür. Kanın sıvı kısmı olan plazmanın ve hücresel elemanlarının büyük çoğunluğunu oluşturan eritrositlerin reolojik özellikleri kan akımına direncin belirlenmesinde rol oynar, dolayısıyla periferik direncin belirlenmesine katkıda bulunur (14,194). Vasküler endotel hücrelerinden de salgılanan NO ve PGI₂'lerin ise eritrosit reolojisi üzerine olumlu etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir (195).

Hipertansif hastalarda kan basıncı yüksekliğine, kanın reolojik özelliklerindeki değişikliklerin de eşlik ettiğinin gösterilmesi, bu değişikliklerin periferik direnç artışına katkıda bulunuyor olabileceği düşüncesini ortaya atmıştır (11-13). Bununla birlikte hipertansiyonda kanın reolojik özelliklerinde saptanan değişikliklerin hipertansiyonun nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu henüz net bir cevap bulamamıştır. Plazma fibrinojen düzeyinde, plazma ve kan viskozitesinde artış, eritrosit deformabilitesinde azalma ve agregasyonunda artma hipertansif hastalarda saptanan hemoreolojik anormallikleri oluşturmaktadır (14).

Kanın akışkanlık özelliklerindeki değişiklikler çeşitli deneysel hipertansiyon modellerinde de incelenmiştir. Sıçanlarda oluşturulan 2K-1C ve DOCA ile indüklenen hipertansiyon modellerinde eritrosit agregasyon indeksinin arttığı, ayrıca 2K-1C hipertansiyon modelinde bu artışa plazma fibrinojen düzeyindeki artışın da eşlik ettiği gösterilmiştir (16). Öte yandan L-NAME hipertansiyon modelinde eritrosit agregasyon artışının yanı sıra eritrosit deformabilitesinin de azaldığı ve bu azalışa eritrosit içi serbest kalsiyum düzeylerindeki artışın da eşlik ettiği bildirilmiştir (17). Bizim çalışmamızda 25mg/kg/gün dozunda ve 6 hafta süresince L-NAME alan H grubunda plazma viskozitesi ve eritrosit agregasyon indeksinde K grubuna kıyasla önemli düzeyde artış saptanmıştır. Bu bulgular önceki çalışmalarla uyum göstermektedir. Öte yandan çalışmamızda, L-NAME ile eş zamanlı olarak magnezyum tedavisi alan HM grubunda hem plazma viskozitesi hem de agregasyon indeksi H grubuna kıyasla önemli azalma göstermiştir. Bununla birlikte tam kan viskozitelerinde gruplar arası fark bulunmamıştır.

Kan reolojik açıdan değerlendirildiğinde, non-Newtonian bir sıvı olmasından dolayı viskozitesi kayma hızına bağlı olarak değişmektedir. Kayma hızının büyük arterlerdeki değerine ulaşmasından sonra ise kan Newtonian bir davranış sergiler, yani viskozitesi kayma hızından bağımsız hale gelir. Bu nedenle çeşitli boyutlardaki damarlarda kan akımı birbirinden farklı karakterler gösterir (139-141). Laminer akım koşullarında sıvının akışkanlığı sıvı tabakaları arasındaki sürtünme kuvvetiyle belirlenir. Kan dokusu gibi iki fazlı sıvılarda plazmaya ait tabakalar arasındaki sürtünme ikinci fazı oluşturan hücrelerin, bu tabakaları ne ölçüde distorsiyona uğrattığı ile ilişkilidir. Ayrıca kanın hücresel elemanları, kolay şekil değiştirebilmelerinden dolayı tabakalar arasındaki sürtünmeyi, dolayısıyla kanın viskozitesini azaltabilirler (141,142).

Sonuç olarak iki fazlı bir sıvı olan kanın akışkanlığı her bir fazın reolojik özellikleri ve bu iki fazın birbirine oranına göre değişiklik gösterir. Buna göre kanın akışkanlığı, plazma viskozitesi, hematokrit değeri ve de kan hücrelerinin reolojik davranışıyla ilişkilidir (139). Bizim çalışmamızda plazma viskozitesi, hematokrit değeri ve eritrosit agregasyon indeksi H grubunda artmış olmakla beraber, eritrosit deformabilitesi bu grupta K grubuna benzer bulunmuştur. Tam kan viskozitesinin belirleyicilerinden birisinin eritrosit deformabilitesi olduğu düşünülürse H grubunda tam kan viskozitesinde artış olmayışı deformabilitenin korunmasına bağlı olabilir.

Plazma protein içeriği plazma viskozitesini belirleyen en önemli faktör olarak gösterilmektedir. Molekül ağırlıkları geniş sınırlar içerisinde değişen plazma proteinleri plazma viskozitesinin suya oranla daha yüksek olmasını sağlar. Plazma viskozitesi hastalık sürecinin non-spesifik bir belirteçidir ve akut faz reaksiyonları ile ilgili patofizyolojik durumlarda artar. Bu artış plazma protein içeriği ile de yakından ilişkilidir. Fibrinojen gibi akut faz reaktanları hastalık sırasında plazma viskozitesindeki artışa önemli ölçüde katkıda bulunur (148). Bizim çalışmamızda plazma fibrinojen düzeyi H grubunda artış eğilimi göstermekle birlikte bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgu H grubunda saptanan plazma viskozitesindeki artışa fibrinojen dışında diğer akut faz reaktanlarının ve plazma proteinlerinin de katkısının bulunabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan L-NAME kullanımıyla oluşturulan NOS inhibisyonunun doz ve süre bağımlı olarak plazma fibrinojen düzeyi üzerine farklı etkilerinin bulunduğu, akut kullanımda artan plazma fibrinojen düzeylerinin kronik inhibisyonda kontrol değerlerine geri döndüğü de bildirilmiştir (196).

Plazma proteinleri aynı zamanda eritrositlerin rulo formasyonu oluşturmaları, diğer bir deyişle agregasyonu üzerine de etkilidirler. Eritrositlerde rulo formasyonu oluşumunu kolaylaştıran plazma proteinlerinin başında fibrinojen gösterilmekle birlikte diğer akut faz reaktanlarının ve plazma globulin fraksiyonundaki değişimlerin de benzer etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. Ayrıca hematokrit değeri, plazma osmolaritesi, pH ve eritrosit yüzey yükleri de eritrosit agregasyonunu etkileyen diğer değişkenleri oluşturmaktadır (146,149). Bizim çalışmamızda eritrosit agregasyon indeksi H grubunda K grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli artış göstermiştir. Bununla birlikte plazma fibrinojen düzeylerinde H grubunda anlamlı artış saptanmamış, ancak hematokrit düzeyinde önemli artış olduğu gösterilmiştir. Aynı grupta ortalama eritrosit hacminin de artmış olarak bulunması, hematokritteki artış ile uyumludur. Hipertansiyonda hematokrit değerlerinde artış olabileceği başka çalışmalarla da desteklenmektedir (12,13-162). Bu nedenle H grubunda saptanan artmış agregasyon indeksine artmış olarak bulunan hematokrit düzeylerinin katkısının olduğu, ayrıca fibrinojen dışındaki diğer faktörlerden de etkilenmiş olabileceği düşünülebilir.

Öte yandan magnezyum tedavisi alan hipertansif grupta plazma viskozitesi ve agregasyon indeksi hipertansif sıçanlara kıyasla önemli bir azalma göstermiştir. Ancak OEH ve hematokrit değerleri kıyaslandığında iki

grup arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır. Bu bulgular magnezyumun agregasyon indeksinde yarattığı azaltıcı etkisinin hematokrit düzeyi dışı faktörler üzerinden olabileceğini düşündürmektedir. Plazma osmolaritesi ve eritrosit membran yüklerindeki değişimler olası mekanizmalar arasında sayılabilir.

Bizim çalışmamızda eritrosit deformabilitesi açısından gruplar arasında fark saptanmamıştır. Bu bulgu L-NAME hipertansiyon modelinde kanın akışkanlık özelliklerini inceleyen daha önceki çalışmalarla paralellik göstermemektedir. Bunun, çalışmalarda kullanılan L-NAME dozunun farklılığına bağlı olması olasıdır. Bahsedilen çalışmalarda kullanılan L-NAME dozu bizim çalışmamızda kullandığımız dozun iki ila üç katı kadardır (16,17). Dolayısıyla çalışmamızda kullandığımız 25mg/kg/gün dozundaki L-NAME, eritrosit deformabilitesini etkileyecek düzeyin altında kalmış olabilir.

Eritrositlerin şekil değiştirebilme özellikleri, dolaşımın farklı geometriye sahip bölgelerinde kan akımının sağlanabilmesi açısından büyük önem taşır. Daha çok membranın viskoelastik özellikleriyle ilişkili olan eritrosit deformabilitesi, eritrosit geometrisi ve sitoplazmik viskoziteden de etkilenir (147,156,157). Eritrosit sitoplazma akışkanlığının en önemli belirteci ise sitoplazmik hemoglobin konsantrasyonudur (157,160). Bizim çalışmamızda altı haftalık gruplar kıyaslandığında OEHK açısından gruplar arasında fark saptanmamıştır. Öte yandan eritrosit içi serbest kalsiyum düzeyleri de deformabiliteyi etkileyen önemli bir faktör olarak gösterilmektedir. Hücre içi serbest kalsiyumun özellikle hemoglobin ile membran proteinleri arasında bağlanmalara neden olarak eritrosit membranının viskoelastik özelliklerini değiştirdiği ve eritrosit deformabilitesinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (197). Bizim çalışmamızda OEHK düzeylerinde olduğu gibi eritrosit içi serbest kalsiyum düzeylerinde de gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmamıştır. Bu bulgular çalışmamızda yer alan hipertansif grupta eritrosit deformabilitesinin bozulmaması bulgusunu da desteklemektedir.

Sonuç olarak NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde oral magnezyum tedavisi, hipertansiyonun gelişim sürecinde uygulandığında, kan basıncı üzerine düşürücü bir etki göstermiştir. Aynı zamanda hipertansiyonda artmış olarak bulunan plazma viskozitesi ve eritrosit agregasyon indeksinde de anlamlı azalmaya neden olmuş ve kanın akışkanlık özellikleri üzerinde olumlu bir etki oluşturmuştur.

Yerleşmiş hipertansiyonda magnezyum kullanımı

Çalışmamızın ikinci aşaması, yerleşmiş olan hipertansiyon modelinde oral magnezyum, tedavisinin kan basıncı ve kanın reolojik özellikleri üzerine etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla hipertansif gruba (H-12) on iki hafta boyunca L-NAME verilmiştir. HM-12 grubunda ise ilk altı hafta tek başına L-NAME uygulanmış, bunu izleyen altı hafta süresince ise L-NAME ile birlikte oral magnezyum tedavisi uygulanmıştır.

İki haftada bir yapılan kan basıncı ölçümlerinin sonucunda HM-12 grubunda kan basıncının magnezyum uygulamasının altıncı haftasında, H-12 grubuna kıyasla önemli derecede azalma gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgu NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde, daha geç evrelerde başlanan oral magnezyum tedavisinin de kan basıncı üzerine olumlu etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

Bunun dışında hematokrit düzeyinde HM-12 grubunda H-12 grubuna kıyasla önemli bir azalma saptanmış, ancak diğer hemoreolojik parametreler açısından bu iki grup arasında önemli bir fark olmadığı gözlenmiştir. Sonuç olarak magnezyum tedavisi yerleşmiş hipertansiyonda kan basıncını düşürücü etki göstermekle birlikte, kanın akışkanlık özellikleri üzerinde herhangi bir etki oluşturmamıştır.

SONUÇLAR

NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde erken dönemde gözlenen kan basıncı yüksekliği NO sentezinin engellenmesiyle açıklanırken, uzun dönemde hipertansiyonu oluşturan patofizyolojik mekanizmalar arasında yapısal vasküler duvar değişiklikleri, renal parankimal hasar ve renin-angiotensin sisteminin anormal aktivasyonu sorumlu tutulmaktadır (10). Dolayısıyla, çalışmamızda hem yerleşmiş hem de gelişmekte olan hipertansiyon modelinde magnezyumun kan basıncını düşürücü etkilerinin gözlenmesi, magnezyumun bu yollar üzerine olabilecek etkilerinden kaynaklanıyor olabilir.

Öte yandan hipertansiyonda gözlenen periferik vasküler direnç artışına kanın reolojik özelliklerinde ortaya çıkan değişimlerin de katkıda bulunduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte hipertansiyonda periferik direncin belirleyicisi olarak vasküler yapısal değişiklikler de önemli yer tutmaktadır (10,14). Bizim çalışmamızda gelişmekte olan hipertansiyonda magnezyum tedavisi, hipertansiyon ile artmış olan eritrosit agregasyonu ve plazma viskozitesini düzeltmiş, ancak yerleşik hipertansiyonda, kan basıncını düşürücü etki göstermesine rağmen kanın reolojik özelliklerini etkilememiştir.

Endotelden salgılanan NO ve PGI₂'nin eritrosit agregasyonunu azaltıcı etkilerinin olduğu bildirilmektedir (195). Gelişmekte olan hipertansiyonda magnezyum kullanımı endotel hücrelerinden bu ajanların salgısını arttırarak eritrosit agregasyonunu olumlu yönde etkilemiş olabilir. Ancak yerleşmiş hipertansiyonda vasküler yapısal değişiklikler ve yukarıda belirtilen diğer mekanizmalar ön plana geçmiş, magnezyum tedavisi endotel disfonksiyonunu azaltmakta yetersiz kalmış ve bu nedenle kan reolojisi üzerinde etki oluşturmamış olabilir. Öte yandan bizim çalışmamızda 12 haftalık deney grupları için aynı yaşta kontrol grubu bulunmadığından, yerleşmiş hipertansiyonda bu modelde kanın reolojik özelliklerinin nasıl etkilendiğinin tam olarak söylenmesi de mümkün değildir.

KAYNAKLAR

1. Kaplan NM: Primary hypertension: Pathogenesis, in *Clinical Hypertension*; Williams & Wilkins, 7th edition, pp. 41-99, 1998.
2. Kornitzer M, Dramaix M, De Backer Guy. Epidemiology of risk factors for hypertension-Implication for prevention and therapy. *Drugs*. 1999 57(5): 695-712.
3. Kaplan NM: *Clinical Hypertension*, Williams & Wilkins, 7th edition, Section 9-12, pp. 281-363, 1998.
4. 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, 12th edition, pp.315-318, 1990.
5. Kunes J, Hojna S, Kadlecova M, Dobesova Z, Rauchova H, Vokurkova M, Loukotova J, Pechanova O, Zicha J. Altered balance of vasoactive systems in experimental hypertension: the role of relative NO deficiency. *Physiol Res*. 2004;53 Suppl 1:S23-34.
6. Cai H and Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases. *Circ Res* 2000 87: 840–844.
7. Mattei P, Virdis A, Ghiadoni L, Taddei S, Salvetti A. Endothelial function in hypertension. *J Nephrol*. 1997 Jul-Aug; 10(4):192-7.
8. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology; *Pharmacol Rev*, Vol 43, No 2:109-142, 1991.
9. Lloyd-Jones DM, Bloch KD: The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis; *Annu Rev Med*, 47: 365-375, 1996.
10. Zats R, Baylis C: Chronic nitric oxide inhibition model six years on; *Hypertension*, 32(6): 958-964, 1998.
11. Harris I, McLoughlin G. The viscosity of blood in high blood pressure. *Q J Med* 1930; 23: 451-464
12. Letcher RL, Chien S, Pickering TG, SealeyJE, Laragh JH. Direct relationship between blood pressure and blood viscosity in normal and hypertensive subjects. *Am J Med* 1981; 70: 1195-1202

13. Sandhagen B, Frihtz G, Waern U, Ronquist G. Increased whole blood viscosity combined with decreased erythrocyte fluidity in untreated patients with essential hypertension. *J Int Med* 1990; 228: 623-626
14. Meiselman HJ. Hemorheologic alterations in hypertension: chicken or egg? *Clin Hemorheol Microcirc.* 1999;21(3-4):195-200.
15. Sandhagen B. Red cell fluidity in hypertension. *Clin Hemorheol Microcirc.* 1999; 21(3-4):179-81.
16. Hacıoglu G, Yalcin O, Bor-Kucukatay M, Ozkaya G, Baskurt OK. Red blood cell rheological properties in various rat hypertension models. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2002; 26(1):27-32.
17. Bor-Küçükatay M, Yalçın O, Gökalp O, Kipmen-Korgun D, Yesilkaya A, Baykal A, Ispir M, Senturk UK, Kaputlu I, Başkurt OK. Red blood cell rheological alterations in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis in rats. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2000; 22(4):267-75.
18. Rosenson RS, Hafner JM. Rheological changes in hypertensive patients treated with Ramipril. *Clin Hemorheol Microcirc* 1997; 17: 193-198
19. Muravyov AV, Zaitsev LG, Muravyov AA, Yakusevich VV, Sirotkina AM. Effects of Ramipril and Isradipin on hemorheological profiles in patients with arterial hypertension. *Clin Hemorheol Microcirc* 1998; 18: 185-190
20. Altura BM, Altura BT. Magnesium and cardiovascular biology: an important link between cardiovascular risk factors and atherogenesis. *Cell Mol Biol Res.* 1995; 41:347-359.
21. Joffres MR, Reed DM, Yano K. Relationship of magnesium intake and other dietary factors to blood pressure: the Honolulu Heart Study. *Am J Clin Nutr.* 1987; 45:469-475.
22. Ascherio A, Rimm EB, Giovannucci EL, Colditz GA, Rosner B, Willett WC, et al. A prospective study of nutritional factors and hypertension among US men. *Circulation* 1992; 86:1475–1484.
23. Mahboob T, Mumtaz M, Haleem MA. Electrolyte content of serum, erythrocyte, kidney and heart tissue in salt induced hypertensive rats. *Life Sci* 1996; 59:731–737.
24. Berthelot A, Luthringer C, Meyers E, Exinger A. Disturbances of magnesium metabolism in the spontaneously hypertensive rats. *J Am Coll Nutr* 1987; 6:329–332.
25. Laurant P, Kantelip JP, Berthelot A. Dietary magnesium supplementation modifies blood pressure and cardiovascular function in mineralocorticoid-salt hypertensive rats but not in normotensive rats. *J Nutr* 1995; 125:830–841.
26. Wells IC, Agrawal DK. Abnormal magnesium metabolism in two rat models of genetic hypertension. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70:1225–1229.

27. Jones MR, Martins JE, Clemens RA. Mineral balance and blood pressure in the young spontaneously hypertensive rat. *J Nutr* 1988; 118:114–120.
28. Jelicks LA, Gupta RK. Intracellular free magnesium and high energy phosphates in the perfused normotensive and spontaneously hypertensive rat heart. A ³¹P NMR study. *Am J Hypertens* 1991; 4:131–136.
29. Ameen M, Davies JE, Ng LL. A comparison of free intracellular calcium and magnesium levels in the vascular smooth muscle and striated muscle cells of the spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto normotensive rat. *Ann NY Acad Sci* 1991; 639:550–553.
30. Sanjuliani AF, de Abreu Fagundes VG, Francischetti EA. Effect of Magnesium, vascular smooth muscle and hypertension Laurant and Touyz 1191 magnesium on blood pressure and intracellular ion levels of Brazilian hypertensive patients. *Int J Cardiol* 1996; 56: 177–183
31. Widman L, Wester PO, Stegmayr BK, Wirell M. The dose-dependent reduction in blood pressure through administration of magnesium. A double blind placebo controlled cross-over study. *Am J Hypertens* 1993;6 :41–45
32. Cappuccio FP, Markandu ND, Beynon GW, Shore AC, Sampson B, MacGregor GA. Lack of effect of oral magnesium on high blood pressure: a double blind study
33. Yamamoto ME, Applegate WB, Klag MJ, Borhani NO, Cohen JD, Kirchner KA, et al. Lack of blood pressure effect with calcium and magnesium supplementation in adults with high-normal blood pressure. Results from phase 1 of the Trials of Hypertension Prevention (TOHP). *Ann Epidemiol* 1995; 5: 96–107
34. Berthelot A, Esposito J. Effects of dietary magnesium supplementation on the development of hypertension in spontaneously hypertensive rat. *Am J Hypertension* 1999; 12: 757-765
35. Touyz RM, Milne FJ. Magnesium supplementation attenuates, but not prevents the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertension* 1999; 12: 757-765
36. Kh R, Khullar M, Kashyap M, Pandhi P, Uppal R. Effect of oral magnesium supplementation on blood pressure, platelet aggregation and calcium handling in deoxycorticosterone acetate induced hypertension in rats. *J Hypertens* 2000; 18: 919-926
37. Mervaala EMA, Pere AK, Lindgren L, Laakso J, Teravainen TL, Karjala K, Juhanni A, Karppanen H. Effects of dietary sodium and magnesium on cyclosporin-A induced hypertension and nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1997; 29: 822-827
38. Ascherio A, Hennekens C, Willett WC, Sacks F, Rosner B, Manson J, Witterman J, Stampfer MJ. Prospective study of nutritional factors, blood pressure and hypertension among US women *Hypertension*. 1996; 27(5): 1065–1072

39. Touyz RM, Yao G. Modulation of vascular smooth muscle cell growth by magnesium-role of mitogen-activated protein kinases. *J Cell Physiol* 2003; 197: 326–335
40. Dietrich A, Chubanov V, Kalwa H, Rost BR, Gudermann T. Cation channels of the transient receptor potential superfamily: their role in physiological and pathophysiological processes of smooth muscle cells. *Pharmacol Ther* 2006; 112 (3): 744–760
41. Runyan AL, Sun Y, Bhattacharya SK, Ahokas RA, Chhokar VS, Gerling IC, Weber KT. Responses in extracellular and intracellular calcium and magnesium in aldosteronism *J Lab Clin Med* 2005; 146 (2): 76–84
42. McHugh D, Beech DJ. Modulation of Ca²⁺ channel activity by ATP metabolism and internal Mg²⁺ in guinea-pig basilar artery smooth muscle cells *J Physiol* 1996; 492(2): 359–376
43. Satake K, Lee JD, Shimizu H, Uzui H, Mitsuke Y, Yue H, Ueda T. Effects of magnesium on prostacyclin synthesis and intracellular free calcium concentration in vascular cells *Magnes Res* 2004; 17(1); 20-27
44. Soltani N, Keshavarz M, Sohanaki H, Zahedi Asl S, Reza Dehpour A. Relaxatory effect of magnesium on mesenteric vascular beds differs from normal and streptozotocin induced diabetic rats. *Europ J Pharm* 2005; 508 (1-3): 177-181
45. Touyz RM, Pu Q, He G, Chen X, Yao G, Neves MF, Viel E. Effects of low dietary magnesium intake on development of hypertension in stroke-prone spontaneously hypertensive rats: role of reactive oxygen species. *J Hypertens* 2002; 20: 2221–2232
46. Weglicki WB, Phillips TM, Freedman AM, Cassidy MM, Dickens BF. Magnesium-deficiency elevates circulating levels of inflammatory cytokines and endothelin. *Mol Cell Biochem* 1992; 110: 169–173
47. Guidelines Subcommittee of the World Health Organization: World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. *J Hypertens* 1999; 17: 151-83
48. Harrap SB. Genetics. In: Oparil S, Weber MA, eds. *Hypertension: Companion to Brenner and Rector's The Kidney*. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1999:ch.4.
49. Cowley AW. Long-term control of arterial blood pressure. *Physiol Rev* 1992; 72:231-300
50. Hunt SC, Hopkins PN, Lalouel JM. Hypertension. In: King RA, Rotter JI, Motulsky AG, eds. *The Genetic basis of Common Diseases*. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 2002. pp. 127-54
51. Guyton AC, Coleman TG, Cowley AW, et al. Arterial pressure regulation: Overriding dominance of the kidneys. *Am J Med* 1972; 52: 584-94

52. Julius S, Schork MA. Predictors of hypertension. *Ann NY Acad Sci* 1978; 304: 38-58
53. Grassi G. Role of the sympathetic nervous system in hypertension. *J Hypertens* 1998; 16 :1979-87
54. Ferrannini E, Natali A, Capaldo B, et al. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and blood pressure. *Hypertension* 1997; 30: 1144-1149
55. Haffner SM, Ferrannini E, Hazuda HP, et al. Clustering of cardiovascular risk factors in confirmed prehypertensive individuals. *Hypertension* 1992; 20:38-45
56. Baron AD, Brechtel-Hook G, Johnson A, et al. Skeletal muscle blood flow. A possible link between insulin resistance and blood pressure. *Hypertension* 1993; 21: 129-35
57. Hausberg M, Hoffman RP, Somers VK, et al. Contrasting autonomic and hemodynamic effects of insulin in healthy elderly versus young subjects. *Hypertension* 1997; 29 :700-5
58. Barba G, Cappucio FP, Russo L, et al. Renal function and blood pressure response to dietary salt restriction in normotensive men. *Hypertension* 1996; 27: 1160-1164
59. Schorr U, Distler A, Sharma AM. Effect of sodium chloride and sodium bicarbonate rich mineral water on blood pressure and metabolic parameters in elderly normotensive individuals: a randomized double blind crossover trial. *J Hypertens* 1996; 14: 131-135
60. Geleijnse JM, Witteman JCM, den Breeijen JH, et al. Dietary electrolyte intake and blood pressure in older subjects: the Rotterdam study. *J Hypertens* 1996; 14: 737-41
61. Brenner BM, Chertow GM. Congenital oigonephropathy and the etiology of adult hypertension and progressive renal injury. *Am J Kidney Dis* 1994; 23: 171-175
62. Hall JE, Brands MW, Shek EW. Central role of the kidney and abnormal fluid volume control in hypertension. *J Hum Hypertens* 1996; 10: 633-639
63. Laragh JH. The renin system and four lines of hypertension research. *Hypertension* 1992; 20: 267-279
64. Googfriend TL, Elliott ME, Catt KJ. Angiotensin receptors and their antagonists. *N Engl J Med* 1996; 334: 1649-1654
65. 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.
66. Urata H, Boehm KD, Philip A, et al. Cellular localization and regional distribution of an angiotensin-II forming chimase in the heart. *J Clin Invest* 1993; 91: 1269-81

67. Nava E, Luscher TF. Endothelium-derived vaso-active factors in hypertension: nitric oxide and endothelin. *J Hypertens* 1995; 13 (suppl 2): S39-48
68. Higashi Y, Oshima T, Ozono R, et al. Effect of L-arginin infusion on systemic and renal hemodynamics in hypertensive patients. *Am J Hypertens* 1999; 12 (part 1): 8-15
69. Vogel RA. Cholesterol lowering and endothelial function. *Am J Med* 1999; 107: 479-487
70. Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995; 333: 356-363
71. Pollock DM: Chronic studies on the interaction between nitric oxide and endothelin in cardiovascular and renal function; *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 26: 258-261, 1999.
72. Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y, et al. The effect of an endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. *Bosentan Hypertension Investigators. N Engl J Med* 1998; 338: 784-790
73. Dzau VJ, Gibbons GH, Cooke JP, et al. Vascular biology and medicine in the 1990s: scope, concepts, potentials, and perspectives. *Circulation* 1993; 87: 705-719
74. Folkow B. "Structural factor" in primary and secondary hypertension. *Hypertension* 1990; 16: 89-101
75. Lever Af, Harrap SB. Essential hypertension: a disorder of growth with origins in childhood? *J Hypertens* 1992; 10: 101-20
76. Takahashi N, Smithies O. Human genetics, animal models and computer simulations for studying hypertension. *Trends Genet.* 2004; 20: 136-145
77. Lerman LO, Chade AR, Sica V, Napoli C: Animal models of hypertension: an overview. *J Lab Clin Med.* 2005 Sep; 146(3):160-73.
78. Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 1963; 27: 282-293.
79. Yamori Y. Implication of hypertensive rat models for primordial nutritional prevention of cardiovascular diseases. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1999; 26: 568-572
80. B. Cvetkovic, C.D. Sigmund. Understanding hypertension through genetic manipulation in mice. *Kidney Int.* 2000; 57: 863-874.
81. Lerman LO, Schwartz RS, Grande JP, Sheedy PF, Romero JC. Noninvasive evaluation of a novel swine model of renal artery stenosis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1455-1465

82. Panek RL, Ryan MJ, Weishaar RE, Taylor DG. Development of a high renin model of hypertension in the cynomolgus monkey. *Clin Exp Hypertens* 1991 ;13: 1395–1414
83. Wiesel P, Mazzolai L, Nussberger J, Pedrazzini T. Two-kidney, one clip and one-kidney, one clip hypertension in mice. *Hypertension*. 1997; 29: 1025–1030
84. Selye H, Stone H. Pathogenesis of the cardiovascular and renal changes which usually accompany malignant hypertension. *J Urol* 1946; 56: 399–419
85. Leenen FH, de Jong W, de Wied D. Renal venous and peripheral plasma renin activity in renal hypertension in the rat. *Am J Physiol* 1973; 225: 1513–1518
86. Pinto YM, Paul M, Ganten D. Lessons from rat models of hypertension (from Goldblatt to genetic engineering). *Cardiovasc Res* 1998; 39 (1): 77–88
87. Watkins BE, Davis JO, Hanson RC, Lohmeier TE, Freeman RH. Incidence and pathophysiological changes in chronic two-kidney hypertension in the dog. *Am J Physiol* 1976; 231: 954–960
88. Machida J, Ueda S, Yoshida M, Soejima H, Ikegami K. Role of sodium and renal prostaglandin E2 in the maintenance of hypertension in the chronic phase of two-kidney one-clip renovascular hypertension in rabbits. *Nephron* 1988; 49(1): 74–80
89. Romero JC, Reckelhoff JF. State-of-the-art lecture. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. *Hypertension* 1999; 34: 943–949
90. Zambraski EJ, Thomas GD, O'Hagan KP. DOCA-treated Yucatan Miniature Swine (a neurogenic model of essential hypertension). In: Swindle MM, Moody DC, Phillips LD editor. *Swine as models in biomedical research*. Ames, Iowa: Iowa State University Press; 1992; p.290–301
91. Dahl LK, Heine M, Tassinari L. Effects of chronic excess salt ingestion. Further demonstration that genetic factors influence the development of hypertension: evidence from experimental hypertension due to cortisone and to adrenal regeneration *J Exp Med* 1965; 120: 533–545
92. Edgley A, Kett M, Anderson W. “Slow pressor” hypertension from low-dose chronic angiotensin II infusion *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001; 28: 1035–1039
93. Skrabal F, Hamberger L, Ledochowski M. Inherited salt sensitivity in normotensive humans as a cause of essential hypertension: a new concept *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6 (suppl 1): 215–223
94. Dahl LK. Salt and hypertension. *Am J Clin Nutr* 1972; 25: 231–244
95. Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987; 10: 512–516

96. Cosenzi A, Bernobich E, Bonavita M, Bertola G, Trevisan R, Bellini G. Antihypertensive treatment with enrasentan (SB217242) in an animal model of hypertension and hyperinsulinemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; 39: 488-495
97. Hill C, Lateef AM, Engels K, Samsell L, Baylis C. Basal and stimulated nitric oxide in control of kidney function in the aging rat. *Am J Physiol* 1997; 272: 1747-1753
98. Armas-Padilla MC, Armas-Hernandez MJ, Sosa-Canache B, et al. Nitric oxide and malondialdehyde in human hypertension. *Am J Ther* 2007; 14: 172-176
99. Kedziora-Kornatowska K, Kornatowski T, Bartosz G, et al. Production of nitric oxide, lipid peroxidation and oxidase activity of ceruloplasmin in blood of elderly patients with primary hypertension. Effects of perindopril treatment. *Aging Clin Exp Res* 2006; 18: 1-6.
100. Di Massimo C, Scarpelli P, Di Lorenzo N, et al. Impaired plasma nitric oxide availability and extracellular superoxide dismutase activity in healthy humans with advancing age. *Life Sci* 2006; 78: 1163-1167
101. Green DJ, O'Driscoll G, Blanksby A, Taylo RR. Control of skeletal muscle blood flow during dynamic exercise. *Sports Med* 1996; 21(2): 119-14
102. Lloyd-Jones DM, Bloch KD. The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis. *Annu Rev Med* 1996; 47: 365-375
103. Mizutani T, Syon AJ. Clinical applications of nitric oxide. *Chest* 1996; 110: 506-524
104. Vapaatalo H, Mervaala E, Nurminen ML. Role of endothelium and nitric oxide in experimental hypertension. *Physiol Res* 2000; 49: 1-10
105. Yuasa S, Li X, Hitomi H, et al. Sodium sensitivity and sympathetic nervous system in hypertension induced by longterm nitric oxide blockade in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27: 18-24.
106. Joint National Committee on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. The Sixth Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection and Treatment of High Blood Pressure (JNC VI). *Arch Intern Med* 1997; 157: 2413-46
107. Irie K, Yamaguchi T, Minematsu K, Omae T: The J-curve phenomenon in stroke recurrence. *Stroke* 1993; 24; 1844 -
108. National Institutes of Health: Working Group report on primary prevention of hypertension. NIH Pub. no: 93-2669, 1993
109. Swales JD. *Manual of Hypertension*. Blackwell Science Ltd. London, 1995; pp 153-60.

110. Jennings GL, Nelson L, Korner P, Esler M. The place of exercise in the long term treatment of hypertension. *Nephron* 1987; 47(Sppl 1): 30-33
111. Touyz RM. Transient receptor potential melastatin 6 and 7 channels, magnesium transport and vascular biology: implications in hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294(3): H1103-1118
112. Sontia B, Touyz RM. Role of magnesium in hypertension. *Arch Biochem Biophys* 2007; 458 (1): 33-39
113. Saris NEL, Mervaala E, Karppanen H, Kwawaja JA, Lewenstam A. Magnesium: An update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta* 2000; 294: 1-26
114. McLean RM. Magnesium and its therapeutic uses: a review. *Am J Med* 1994; 96: 63-76
115. Tong GM, Rude DK. Magnesium deficiency in critical illness. *J Intensive Care Med* 2005; 20: 3-17.
116. Dubé L, Granry JC. The therapeutic use of magnesium in anesthesiology, intensive care and emergency medicine: a review. *Can J Anaesth* 2003; 50: 732-46
117. Monteilh-Zoller MK, Hermosura MC, Nadler MJ, Scharenberg AM, Penner R, Fleig A. TRPM7 provides an ion channel mechanism for cellular entry of trace metal ions. *J Gen Physiol* 2003; 121: 49–60
118. Romani AM. Magnesium homeostasis in mammalian cells. *FrontBiosci* 2007; 12: 308–331
119. Schlingmann KP, Waldegger S, Konrad M, Chubanov V, Gudermann T. TRPM6 and TRPM7-Gatekeepers of human magnesium metabolism. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772: 813–821
120. Di Francesco A, Desnoyer RW, Covacci V, Wolf FI, Romani A, Cittadini A, Bond M. Changes in magnesium content and subcellular distribution during retinoic acid-induced differentiation of HL60 cells. *Arch Biochem Biophys* 1998; 360: 149–157
121. Takaya J, Higashimo H, Kobayashi Y. Can magnesium act as a second messenger? Current data on translocation induced by various biologically active substances. *Magnes Res* 2000; 13: 139–146
122. Agus ZS, Morad M. Modulation of cardiac ion channels by magnesium. *Annu Rev Physiol* 1991; 53: 299-307
123. Şentürk UK, Kaputlu I, Gündüz F, Kuru O, Gökalp O. Tissue and blood levels of zinc, Cooper, and magnesium in nitric oxide synthase blockade induced hypertension. *Biol Trace Elem Res* 200; 77(2); 97-106

124. Frenkel Y, Weiss M, Shefi M, Lusky A, Mashiach S, Dolev E. Mononuclear cell magnesium content remains unchanged in various cell hypertensive disorders of pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 1994; 38: 220-222
125. Suter PM. The effects of potassium, magnesium, calcium and fiber on risk of stroke. *Nutr Rev* 1999; 57: 84-88
126. Katz A, Rosenthal T, Maoz C, Peleg E, Zeidenstein R, Levi Y. Effect of mineral salt diet on 24 h blood pressure monitoring in elderly hypertensive patients. *J Hum Hypertens* 1999; 13: 777-780
127. Ferrari LA, Iannuzzi R, Castaldo A, Iannuzzi A, Dello Russo A, Mancini M. Long-term magnesium supplementation in essential hypertension. *Cardiology* 1992; 81: 25-33
128. Kawasaki T, Itoh K, Kawasaki M. Reduction in blood pressure with a sodium reduced potassium and magnesium enriched salt in subjects with mild essential hypertension. *Hypertens Res* 1998; 21: 235-243
129. Evans GE, Weaver CM. Dietary magnesium does not effect blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens* 1989; 11: 619-632
130. Lauant P, Gaillard E, Kantelip JP, Berthelot A. Lack of magnesium supplementation effects on blood pressure and vascular responsiveness in aged spontaneously hypertensive rats. *Magnesium Bull* 1996; 18: 38-43
131. Belfort MA, Moise KJ. Effect of magnesium sulphate on maternal brain blood flow in preeclampsia: a randomised, placebo controlled study. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 661-666
132. Lind L, Lithell H, Pollare T, Ljunghall S. Blood pressure response during long-term treatment with magnesium is dependent on magnesium status. A double blind, placebo controlled study in hypertension and in subjects with high-normal blood pressure. *Am J Hypertens* 1991; 4: 674-679
133. Berthon N, Laurant P, Hayoz D, Fellman D, Brunner HR, Berthelot A. Magnesium supplementation and deoxycorticosterone acetate-salt hypertension: effect on arterial mechanical properties and on activity of endothelin-1. *Can J Physiol and Pharm* 2002; 80(6): 553-561
134. Tritilli A. Effects of magnesium on human umbilical arteries: role of intracellular calcium stores. *Pharmacology* 1998; 57: 295-304
135. Nakajima T, Iwasawa K, Hazama H, Asano M, Okuda Y, Omata M. Extracellular Mg²⁺ inhibits receptor-mediated Ca²⁺-permeable non-selective cation currents in aortic smooth muscle cells. *Europ J Pharm* 1997; 320: 81-86
136. Pearson PJ, Evora PR, Seccombe JF, Schaff HV. Hypomagnesemia Inhibits Nitric Oxide Release From Coronary Endothelium: Protective Role of Magnesium Infusion After Cardiac Operations. *Ann Thoracic Surg* 1998; 65(4): 967-972

137. Gold ME, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G, L J Ignarro LJ. Antagonistic modulatory roles of magnesium and calcium on release of endothelium-derived relaxing factor and smooth muscle tone. *Circ Res* 1990; 66: 355-366
138. Weglicki W, Quamme G, Tucker K, Haigney M, Resnick L. Potassium, magnesium, and electrolyte imbalance and complications in disease management. *Clin Exp Hypertens* 2005; 27: 95-112
139. Merrill EW. Rheology of blood. *Physiol Rev* 1969; 49: 863-888
140. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood Rheology and Hemodynamics. *Semin Thromb Hemost* 2003; 29(5): 435-450
141. Lowe GDO. Blood rheology In Lowe GDO, ed *Clinical Blood Rheology* 1988; CRC Press, Inc Florida Volume 1: 30-40
142. Lowe GDO.: *Clinical Blood Rheology*; Boca Raton FL: CRC Press; 95-117, 1988
143. Lowe GDO.: Nature and clinical importance of blood rheology; In Lowe GDO, ed *Clinical Blood Rheology*, Inc Florida: CRC Press, 36-65, 1988.
144. Wells R, Schmid-Schonbein H.: Red cell deformation and fluidity of concentrated cell suspensions; *J Appl Physiol*, 27: 213-217, 1969.
145. Schmid-Schonbein H, Wells RE, Goldstone J.: Fluid drop-like behaviour of erythrocytes-disturbance in pathology and its quantification; *Biorheology*, 7: 227-234, 1971.
146. Shiga T, Maeda N, Kon K. Erythrocyte rheology. *Critical reviews in Oncology and Hematol* 1990; 10: 9-48
147. Chien S. Red cell deformability and its relevance to blood flow. *Ann Rev Physiol* 1987; 49: 177-192
148. Rand PW, Baker N, Lacombe E. Effects of plasma viscosity and aggregation in whole blood viscosity. *Am J Physiol* 1970; 218: 115-123
149. Meiselman HJ. Red blood cell role in RBC aggregation: 1963-1993 and beyond. *Clin Hemorheol* 1993; 13: 575-592
150. Rampling MW. Red cell aggregation and yield stress. In Lowe GDO, ed. *Clinical Blood Rheology*. 1988 CRC Press, Inc. Florida. Volume 1: 120-143
151. Chien S, Sug LA.: Physicochemical basis and clinical implications of red cell aggregation; *Clinical Hemorheol*, 7: 71-91, 1987.
152. Evans E, Berk D, Leung A.: Detachment of agglutinin-bonded red blood cells. I. Forces to rupture molecular-point attachments; *Biophys J*, 59: 838-848, 1991.

153. Arnold K, Zschoernig O, Barthel D, Herold W.: Exclusion of poly(ethylene glycol) from liposome surfaces; *Biochim Biophys Acta*, 1022: 303-310, 1990.
154. Baskurt OK, Meiselman HJ.: Cellular determinants of low-shear blood viscosity; *Biorheology*, 34: 235-247, 1997.
155. Kay MM. Mechanism of removal of senescent cells by human macrophages in situ; *Proc Natl Acad Sci U S A*, 72: 3521-3525, 1975.
156. Mohandas N. Molecular basis for red cell membrane viscoelastic properties. *Biochem Soc Trans* 1992; 20: 776-782
157. Mohandas N, Chasis JA, Shohet SB. The influence of membrane skeleton on red cell deformability, membrane material properties, and shape. *Semin Hematol* 1983; 20: 225-242
158. Sheetz MP. Membrane skeletal dynamics: Role in modulation of red cell deformability, mobility of transmembrane proteins, and shape. *Semin Hematol* 1983; 20: 175-188
159. Mohandas N, Chasis JA.: Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids; *Semin Hematol*, 30: 171-192, 1993.
160. Heath BP, Mohandas N, Wyatt JL, Shohet SB.: Deformability of isolated red blood cell membranes; *Biochim Biophys Acta*, 691: 211-219, 1982.
161. Cokelet GR, Meiselman HJ.: Rheological comparison of hemoglobin solutions and erythrocyte suspensions; *Science*, 162: 275-277, 1968.
162. Linde T, Sandhagen B, Hagg A, Morlin C, Wikstrom B, Danielson BG. Blood viscosity and peripheral vascular resistance in patients with untreated essential hypertension. *J Hypertension* 1993; 11: 731-736
163. Fowkes FGR, Lowe GDO, Rumley A, Lennie SE, Smith FB, Donnan PT. The relationship between blood viscosity and blood pressure in a random sample of population aged 55 to 74 years. *Europ Heart J* 1993; 14: 597-601
164. Razavian SM, Pino MD, Simon A, Levenson J. Increase in erythrocyte disaggregation shear stress in hypertension. *Hypertension* 1992; 20: 247-252.
165. Lominadze D, Joshua IG, Schuschke DA Increased erythrocyte aggregation in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 1998 Jul; 11(7):784-9.
166. Korbut RA, Adamek-Guzik T. [The effect of aspirin on rheological properties of erythrocytes in essential hypertension]. *Przeegl Lek*. 2002; 59(2):71-5. Polish.
167. Lominadze D, Schuschke DA, Joshua IG, Dean WL. Increased ability of erythrocytes to aggregate in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens*. 2002 Jul; 24(5):397-406.

168. Linde T, Sandhagen B, Hagg A, Morlin C, Danielson BG. Decreased blood viscosity and serum levels of erythropoietin after anti-hypertensive treatment with amlodipin or metoprolol. *J Human Hypertension* 1996; 10: 199-205
169. Martinez M, Vaya A, Labios M, Gabriel F, Guiral V, Aznar J. The effect of long term treatment with hypotensive drugs on blood viscosity and erythrocyte deformability in patients with essential arterial hypertension. *Clin Hemorheol Microcirc* 1997; 17: 193-198
170. Brun JF. Hormones, metabolism and body composition as major determinants of blood rheology: Potential pathophysiological meaning. . *Clin Hemorheol Microcirc* 2002; 26: 63-79
171. Volger E, Pfafferott C, Weigl H, Neurohr D. A calcium antagonistic effect of magnesium related to erythrocyte deformability. . *Clin Hemorheol*. 1987, 7, 422 (abstract).
172. Dupuy-Fons C, Brun JF, Mallart C, Carvajal J, Fussellier M, Bardet L, Orsetti A. In vitro influence of zinc and magnesium on the deformability of red blood cells artificially hardened by heating. *Biol Trace Elem Res*. 1995 Jan-Mar;47(1-3):247-55.
173. Schauf B, Mannschreck B, Becker S, Dietz K, Wallwiener D, Aydeniz B. Evaluation of red blood cell deformability and uterine blood flow in pregnant women in preeclampsia or IUGR and reduced uterine blood flow following the intravenous application of magnesium. *Hypertension in Pregnancy* 2004; 23(3): 331-343
174. Sowers JR, Zemel MB, Bronsteen RA, Zemel PC, Walsh MF, Standley PR, Sokol RJ. Erythrocyte cation metabolism in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161:441-450
175. Schauf B, Aydeniz B, Pijnenborg R, Wallwiener D. Zusammenhang zwischen Erythrozytenverformbarkeit und intraerythrozytarem ATP in der Schwangerschaft. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2002; 62:477-480
176. Brugnara, C, Tosteson DC. Cell volume, K transport and cell density in human erythrocytes. *Am J Cell Physiol* 1987; 252: C269-C276
177. Flatman, PW, Lew VL. The magnesium-dependence of sodium-pump-mediated sodium-potassium and sodium-sodium exchange in intact human red cells. *J Physiol (Lond.)* 1981; 315: 421-446
178. De Franceschi L, Beuzard Y, Jouault H, Brugnara C. Modulation of erythrocyte potassium-chloride cotransport, potassium content and density by dietary magnesium intake in transgenic SAD mouse. *Blood* 1996; 88: 2738-2744
179. Dou M, Ma AG, Wang QZ, Liang H, Li Y, Yi XM, Zhang SC. Supplementation with magnesium and vitamin E were more effective than magnesium alone to decrease plasma lipids and blood viscosity in diabetic rats. *Nutr Res* 2009; 29: 519-524

180. Borella P, Ambrosini G, Concari M, Bargellini A. Is magnesium content in erythrocytes suitable for evaluating cation retention after oral physiological supplementation in marginally magnesium-deficient subjects? *Magnes Res* 1993; 6: 149–153.
181. Koopman J, Maas A, Rezaee F, Havekes J, Verheijen J, Gijbels M, Haverkate F: Fibrinogen and atherosclerosis: A study in transgenic mice. *Fibrinol Proteol* 1997; 11-19
182. Kaestner L, Tabellion W, Weiss E, Bernhardt I, Lipp P. Calcium imaging of individual erythrocytes: Problems and approaches. *Cell Calcium* 2006; 39: 13–19
183. Mooren FC, Golf SW, Lechtermann A, Völker K. Alterations of ionized Mg²⁺ in human blood after exercise. *Life Sci.* 2005 Jul 29;77(11):1211-25.
184. Whelton PK, Klag MJ. Magnesium and blood pressure: review of the epidemiologic and clinical trial experience. *Am J Cardiol* 1989; 63: 26G–30G.
185. Van Leer E. M, Seidell JC, Kromhout D. Dietary calcium, potassium, magnesium and blood pressure in the Netherlands. *Int J Epidemiol* 1995; 24:1117–1123.
186. Simons-Morton DG, Hunsberger SA, Van Horn L, Barton BA, Robson AM, McMahon RP, et al. Nutrient intake and blood pressure in the Dietary Intervention Study in children. *Hypertension* 1997; 29:930–936.
187. Mizushima S, Cappucio FP, Nichols R, Elliott P. Dietary magnesium intake and blood pressure: a qualitative overview of the observational studies. *J Hum Hypertens* 1998; 12:447–453.
188. Mäkynen H, Kähönen M, Arvola P, Wuorela H, Vapaatalo H, Pörsti I. Dietary calcium and magnesium supplements in spontaneously hypertensive rats and isolated arterial reactivity. *Br J Pharmacol.* 1995 Aug; 115(8):1455-62.
189. R.J. Elin. Assessment of magnesium status. *Clin Chem*, 33 (1987), pp. 1965–1970
190. Resnick LM. Ionic basis of hypertension, insulin resistance, vascular disease and related disorders: mechanisms of Syndrome X. *Am J Hypertens* 1993; 6:123S–134S.
191. Tosiello L. Hypomagnesemia and diabetes mellitus. *Arch Intern Med* 1998; 156:1143–1148.
192. Sanders GT, Huijgen HJ, Sanders R. Magnesium in disease: a review with special emphasis on the serum ionized magnesium. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37:1011–1033.
193. Laurant P, Berthelot A. Endothelin-1-induced contraction in isolated aortae from normotensive and DOCA-salt hypertensive rats: effect of magnesium. *Br J Pharmacol.* 1996 Dec;119(7):1367-74

- 194.** Chabanel A. and Chien S. Blood viscosity as a factor in human hypertension, in: Hypertension, JH. Laragh and BM. Brenner, eds, Raven Press, New York, 1990, pp. 329-337.
- 195.** Starzyk D, Korbut R, Gryglewski RJ. Effects of nitric oxide and prostacyclin on deformability and aggregability of red blood cells of rats ex vivo and in vitro. *Physiol Pharmacol.* 1999 Dec; 50(4):629-37.
- 196.** Sugimoto K, Tsuruoka S, Fujimura A. Effect of prolonged nitric oxide synthesis inhibition on plasma fibrinogen concentration in rats. *Jpn J Pharmacol.* 2001 Jan; 85(1):114-6.
- 197.** Friederichs E, Meiselman HJ. Effects of calcium permeabilization on RBC rheologic behavior. *Biorheology.* 1994 Mar-Apr; 31(2):207-15.

ÖZGEÇMİŞ

10.04.1973 yılında İstanbul'da dünyaya gelen Melike Cengiz, ilköğrenimini Antalya Namık Kemal İlkokulunda, orta ve lise öğrenimini Antalya Anadolu Lisesinde tamamlayarak 1990 yılında mezun oldu. Aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimine başlayıp 1996 yılında tıp doktoru ünvanı ile mezun oldu. 1997-1999 yılları arasında Afyon Dinar Ana-Çocuk Sağlığı Merkezinde sorumlu hekim olarak görev yaptı. Mayıs 1999 tarihinde Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalına araştırma görevlisi olarak atandı. Mayıs 2004'de Anesteziyoloji ve Reanimasyon uzmanlığını aldı ve halen aynı bölümde Doçent doktor olarak görev yapmaktadır. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim dalındaki yüksek lisans eğitimine 2005 Bahar döneminde, doktora eğitimine ise 2007 Güz döneminde başlamıştır. Yabancı dili İngilizce olup, evli ve 3 çocuk annesidir.