

NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyon: Sıçanlarda Sabit ve Kademeli doz L-NNA Uygulamalarının Karşılaştırılması

Süleyman OKTAR^a, Engin YILMAZ, Engin ŞAHNA, Hakkı Engin AKSULU

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ÖZET

Amaç: Esansiyel hipertansiyon araştırmalarında yoğun olarak kullanılan kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda, bugüne kadar NOS inhibitörü ajanlar deney boyunca sabit dozlarda kullanılmıştır. Oysa esansiyel hipertansiyonda NO sentez ve/veya salıverilmesi progresif olarak azalmaktadır. Esansiyel hipertansiyonu daha iyi taklit etmek için bir NOS inhibitörü olan L-NNA giderek artan dozlarda uygulandı ve kan basıncı gelişimine etkileri sabit doz L-NNA uygulamasıyla karşılaştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Wistar sıçanlar 3 gruba ayrıldı: Kontrol grubuna deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. İkinci gruba L-NNA dozu sabit ve üçüncü gruba ise her hafta kademeli bir şekilde artırılarak 3 hafta boyunca uygulandı. Kan basıncı ve kalp hızları tail-cuff metodu ile ölçüldü. Ayrıca, plazma nitrit/nitrat seviyeleri ve böbrek/vücut ağırlığı indeksleri karşılaştırıldı.

Bulgular: Sabit doz L-NNA alan grubun kan basıncı artarken kalp hızının düştüğü, fakat L-NNA dozu kademeli olarak uygulandığında kan basıncı yükselmesine rağmen kalp hızında bir düşme olmadığı tespit edildi. Her iki grubun plazma nitrit/nitrat seviyeleri anlamlı düşerken böbrek/vücut ağırlığı indekslerinde bir değişiklik tespit edilmedi.

Sonuç: NOS inhibisyonunun kademeli olarak artırılmasıyla kan basıncı artmasına rağmen kalp hızının değişmemesi, bu modelin sabit doz NOS inhibisyonuna göre esansiyel hipertansiyonla daha ilişki olabileceğine işaret etmektedir. ©2007, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Anahtar kelimeler: Nitrik Oksit/Eksiklik, Hipertansiyon, Kalp Hızı

ABSTRACT

NOS Inhibition-Induced Hypertension: Comparison of Stable and Gradual Dose of L-NNA Administration in Rats

Objective: Chronic NOS inhibition-induced hypertension model is used commonly in essential hypertension researches. All these studies investigated using a stable doses of NOS inhibitor agents over experimental progress. But, it is decreased gradually synthesis and/or release of NO in essential hypertension. To better mimic essential hypertension, the doses of L-NNA (a NOS inhibitor) was administrated gradually increasing and was compared group of stable dose.

Material and Method: Wistar rats were divided into 3 groups. Control group was done any administration. Second group took the stable concentration of L-NNA over 3 weeks and third group took gradually increasing concentration of L-NNA for 3 weeks. Blood pressure and heart rate are measured by tail-cuff method. Plasma nitrite/nitrate levels and kidney/body weight ratios were also compared.

Results: In the stable dose administrated group, heart rates decreased while the blood pressure increased. On the other hand, in the gradually increasing doses of L-NNA administrated group, heart rates did not change despite the increasing blood pressure. Plasma nitrite/nitrate levels decreased significantly but there was any change in kidney/body weight indexes in groups.

Conclusion: It is suggested that is associated more gradually NOS inhibition than stable NOS inhibition with essential hypertension. ©2007, Fırat University, Medical Faculty

Key words: Nitric Oxide/deficiency, Hypertension, Heart Rate

Günümüzde yaygın bir sağlık problemi olan esansiyel hipertansiyonun gelişimi ve buna katkısı olan faktörler henüz yeterince aydınlatılmamıştır. Mültifaktoriyel temellere dayanan patojenezinde sodyum hipotezi ve endotelium disfonksiyonu en kabul edilebilir yaklaşımlardır. Periferik damar direnci artışıyla seyreden esansiyel hipertansiyon, nitrik oksit (NO) ve prostasiklin gibi endotelium kaynaklı vazodilatör sistemlerin zaafiyetiyle ilişkilendirilmiştir (1). Seksenli yıllarda NO'nin 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 vazodilatör etkili NO'nin arteriyel kan basıncı ile lokal kan akımının düzenlenmesinde önemli rolü olduğuna ve bu sistemin yetersizliğinin esansiyel

hipertansiyon patojenezinden sorumlu olabileceğine işaret etmektedir (2-5). NO, L-arjinin'den nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri tarafından sentezlenir. NOS enzimlerinin NG-nitro-L-Arjinin (L-NNA), NG-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) gibi L-arjinin analoglarının uygulanmasıyla kronik inhibisyonu sonucu arteriyel kan basıncını artmasıyla yeni bir hipertansiyon modeli geliştirilmiştir (6,7).

Kronik NOS inhibisyonu esansiyel hipertansiyon araştırmalarında kullanılmakla birlikte mekanizması henüz yeterince anlaşılamamıştır. 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 (8). Son yıllarda bu model hipertansiyonun

^a Yazışma Adresi: Dr. Süleyman Oktar, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Elazığ

* Türk Farmakoloji Derneği, 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi 28 Eylül – 1 Ekim 2005 DESEM, Alsancak, İzmir

Tel: +90 424 2370000

e-mail: suleymanoktar@yahoo.com

artmış sodyum duyarlılığıyla ve sempatoadrenerejik sistem aktivitesi artışıyla ilişkisi öne plana çıkmıştır (9). 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 (10). Tüm çalışmalarda NOS inhibitörleri deneklere ister düşük ister yüksek doz olsun daima sabit dozlarda uygulanmıştır. Bu uygulamanın NO sentezinde deney süresince baştan sona aynı oranlarda bir düşüşe yol açması beklenir. Oysa esansiyel hipertansiyonda NO sentez ve/veya salıverilmesinin progresif olarak azalması söz konusudur (2,11,12). Bu çalışmada amaç esansiyel hipertansiyonda NO miktarındaki tedrici azalmayı daha iyi taklit edebileceği düşünülen, NOS inhibitörü L-NNA'yı giderek artan dozlarla uygulayarak meydana gelen etkileri mukayese etmek ve değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney hayvanları

Deneylerde Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde üretilen 30 adet Wistar cinsi, 200-300g, ağırlığında erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlara standart şartlarda (12 saat ışık, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, sabit ısı odalarda), özel kafeslerde bakıldı. Sıçanların başlangıç ve sonuç ağırlıkları ile içtikleri su miktarları hergün ölçüldü. Sıçanlar 8 mm'lik standart sıçan pellet yemi ile beslendi. Tüm deney prosedürlerinde " Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu" prensiplerine titizlikle uyuldu.

Deneyel Protokol

Sıçanlar 3 gruba ayrıldı.

Kontrol grubu (KONTROL): Deney süresi boyunca bu grup sıçanlara hiçbir uygulama yapılmadı (n=10).

Sabit doz L-NNA grubu (S-LNNA): Sıçanlara içme suyunda 69±mol/L konsantrasyonda L-NNA 3 hafta süreyle verildi. Aldıkları ortalama doz yaklaşık 22±0,2 mg/kg/gün olarak hesaplandı (n=10).

Kademeli doz L-NNA grubu (K-LNNA): Sıçanlara içme suyunda ilk hafta 23 ±mol/L, 2.hafta 69±mol/L, 3.hafta 207 □mol/L konsantrasyonda L-NNA verildi. Verilen ortalama yaklaşık doz ilk hafta 7 mg/kg/gün, 2.hafta 20, 4±0,1 mg/kg/gün, 3.hafta 60,9±0,5 mg/kg/gün L-NNA şeklinde hesaplandı (n=10).

Deney süresince S-LNNA ve K-LNNA gruplarına verilen total L-NNA miktarı arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Kan Basıncı ve Kalp Hızı Ölçümü

Bilinci açık sıçanların sistolik kan basıncı ve kalp hızı ölçümleri kuyruktan indirekt tail-cuff yöntemi ile yapıldı (MAY BPHR 9610-PC Tail-Cuff Indirect Blood Pressure Recorder. Commat Ltd., Ankara, Türkiye). Sıçanların kan basıncı ve kalp hızı ölçümleri L-NNA uygulamaya başlamadan önce (0.gün) ve L-NNA uygulamaya başladıktan sonra 7, 14, 21. günlerde 3 hafta süreyle ölçüldü. Her bir denek tek başına olarak muhafaza edici bir kutuya kondu ve sonra denegin kuyruğuna tail-cuff cihazının cuff ve sensörü yerleştirildi.

Sıçanların kuyrukları düzenli sinyal sesi ve pulse (atım) alana kadar 37-38 Co de 10- 20 dakika süreyle MAY TWC 02 Tail Warming Controller (Commat Ltd., Ankara, Türkiye) ile ısıtıldı. Ölçümler sessiz ve sakin laboratuvar ortamında denegin rahat ve sakin olduğu, düzenli sinyal sesinin alındığı anda yapıldı ve değerler bilgisayara kaydedildi. Herbir, sıçandan en az 5 ölçüm alınıp bu değerlerden en yüksek ve en düşük olanı çıkarılarak geri kalan 3 değerın ortalamaları hesaplandı.

Cerrahi İşlemler

Üçüncü haftanın sonunda sıçanlar hassas terazi ile tartıldıktan sonra servikal dislokasyon yöntemi ile öldürüldü. Sıçanlar orta hattan kesilerek açılıp sol ventrikülden enjektör ile kan alındıktan sonra her bir sıçanın sol böbreği etraf bağ ve yağ dokulardan temizlenip standart bir şekilde total olarak çıkarıldı.

Plazma NOx ölçümü

Sıçanlardan alınan kan örneklerinin plazma NOx konsantrasyonları daha önce laboratuvarımızda çalışılan Cortas ve Wakid'in bildirdiği yöntemle tespit edildi (13,14). Kısaca özetlenirse, alınan kanlar ETDA'lı tüplere konularak 5000g'de santrifüj edildi. Plazmalar ayrılarak ölçüm yapılanaya kadar -20 santigrat derecede saklandı. Ölçüm sırasında plazmalardan 250µl alınarak üzerine 1ml çinko sülfat çözeltisi eklenip vortekslenildikten sonra 1,250 µl sodyum hidroksit çözeltisi ilave edildi. 3500g de 10 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra üstteki çözelti kısmı alınarak üzerine 2 ml distile su 1 ml glisin tamponu eklenerek yıkanmış kadmiyum granüllerinin üzerine eklendi. Doksan dakika boyunca karanlıkta inkübe edildikten sonra 2 ml indirgenmiş numune alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid 1ml naftiletilediamin çözeltisi 0.5 ml distile su ilave edildi. Yirmi-60 dakika bekletildikten sonra 545 nm dalgaboyunda ölçüm yapıldı.

Böbrek/Vücut Ağırlığı (B/V) İndeksi

Sıçanların sol böbrekleri kurutma kağıdı ile kurutulduktan hemen sonra hassas terazi ile tartıldı. Herbir sıçan için ayrı tüm böbrek ağırlığı tüm vücut ağırlığına bölünerek böbrek/vücut ağırlığı indeksi tespit edildi.

İstatistik

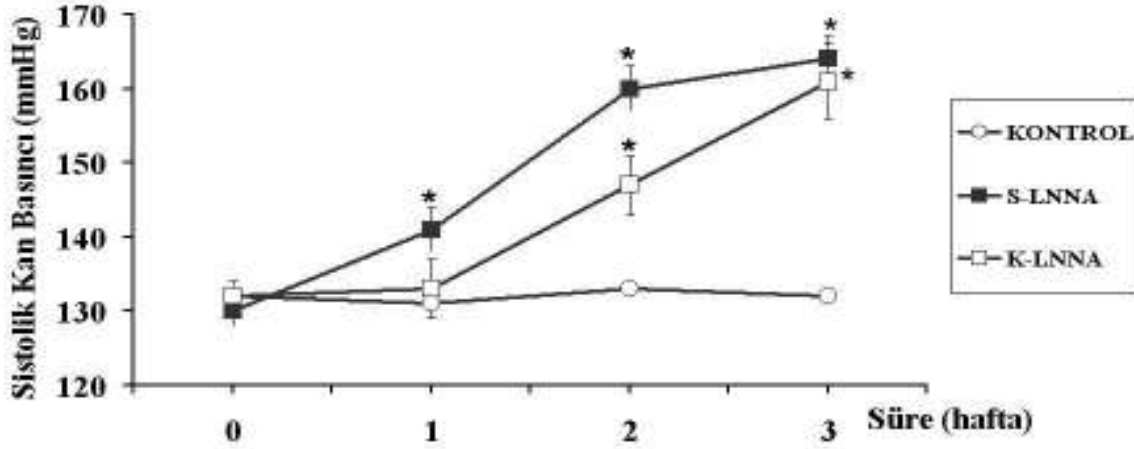
Elde edilen veriler ortalama ± standart hata olarak belirlendi. Elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılık düzeyleri ' Origin 5.0 ' istatistik programı kullanılarak student-t ve ANOVA testi ile belirlendi. p<0,05 değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi..

BULGULAR

Sistolik kan basıncı ve kalp hızı değerleri:

KONTROL grubunda kan basıncı deney boyunca değişmedi (sırasıyla sıfır, 1, 2, 3. haftalar: 132±1; 131±1; 133±1; 132±1), (p>0,05). S-LNNA grubunda sistolik kan basıncı, L-NNA uygulaması ile tüm haftalarda giderek yükseldi (sırasıyla sıfır, 1, 2, 3. haftalar: 130±2; 141±3; 160±3; 164±3 mmHg) ve K-LNNA grubu sistolik kan basıncı değerleri 1. hafta dışında benzer şekilde giderek yükseldi (sırayla sıfır, 1, 2, 3. haftalar: 132±2; 133±4; 147±4; 161±5 mmHg), (p<0,05) (Şekil 1).

Şekil 1. Sistolik Kan Basıncı Değerleri



* Sistolik Kan Basıncı KONTROL grubuna göre anlamlı olarak yükselmıştır.

KONTROL (n=10): Deney süresi boyunca hiçbir uygulamaya yapılmadı. S-LNNA (n=10): İçme suyuyla üç hafta boyunca ortalama 22±0,2 mg/kg/gün L-NNA verildi. K-LNNA (n=10): İçme suyuyla 1. hafta 7 mg/kg/gün, 2. hafta 20,4±0,1 mg/kg/gün, 3. hafta 60,9±0,5 mg/kg/gün L-NNA verildi.

Kalp hızları (atım/dakika) L-NNA uygulamasına başlamadan önce sıfırncı ve 1. haftada tüm gruplarda benzerdi (0.haftada KONTROL, S-LNNA, K-LNNA sırasıyla: 330±5; 339±6; 343±5 ve 1.haftada KONTROL, S-LNNA, K-LNNA sırasıyla: 324±4; 316±4; 318±5). İkinci ve 3. haftalarda L-NNA uygulamasından sonra S-LNNA grubunda kalp hızı anlamlı olarak düşerken, K-LNNA grubunda kalp hızında kontrole göre anlamlı bir değişiklik olmadı (atım/dakika) 2. haftada KONTROL, S-LNNA, K-LNNA sırasıyla: 326±4; 309±4; 318±5 ve 3.haftada KONTROL, S-LNNA, K-LNNA sırasıyla: (atım/dakika) 320±2; 292±3,2; 324±5) (Tablo 1).

Tablo 1. KONTROL, S-LNNA ve K-LNNA gruplarının kalp hızları (atım/dakika).

	KONTROL (n=10)	S-LNNA (n=10)	K-LNNA (n=10)
0.gün	330±5	339±6	343±5
7.gün	324±4	316±4	318±5
14.gün	326±4	309±4*	318±5
21.gün	320±2	292±3*	324±5

*Kalp hızı KONTROL grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır.

Plazma NOx Düzeyleri

L-NNA uygulanan her iki grupta plazma NOx düzeyleri benzerdi ve kontrole göre (n=8) anlamlı olarak düşüktü (sırayla KONTROL, S-LNNA, K-LNNA: 292±10; 117±2; 111±1; $\times 10^{-9}M$), ($p < 0,05$) (Tablo 2).

Tablo 2. KONTROL, S-LNNA ve K-LNNA gruplarının plazma NOx düzeyleri.

	KONTROL (n=10)	S-LNNA (n=10)	K-LNNA (n=10)
Plazma NOx ($\times 10^{-8}M$)	292 ± 10	117±2*	111±1*

*Plazma NOx düzeyleri KONTROL grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır.

B/V İndeksi

Tüm gruplar arasında B/V indeksleri benzerdi (sırayla KONTROL, S-LNNA, K-LNNA: 386±14; 374±9; 350±16; $\times 10^{-6}$), ($p > 0,05$) (Tablo 3).

Tablo 3. KONTROL, S-LNNA ve K-LNNA gruplarının B/V indeksleri*

	KONTROL (n=10)	S-LNNA (n=10)	K-LNNA (n=10)
Böbrek/Tüm Vücut Ağırlığı ($\times 10^{-6}$)	386 ± 14	374 ± 9	350 ± 16

Gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

TARTIŞMA

Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda plazma NOx ve serum NO seviyesinde anlamlı bir azalma vardır (15,16). Serum NO seviyesinde meydana gelen azalma ortalama kan basıncı artışıyla korelasyon göstermekte ve plazma NOx seviyesi yaşlanmayla birlikte gittikçe azalmaktadır (15,17). 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 (18). Sonuçta esansiyel hipertansiyonda endotelial fonksiyon tedrici olarak bozulmakta ve zamanla NO seviyesinde meydana gelen azalma kan basıncında kademeli bir artışa neden olmaktadır.

Günümüzde NO sentaz inhibitörlerinin kronik olarak uygulanmasıyla hipertansiyon geliştiği iyi bilinmektedir (8). Kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon oluşturulan tüm çalışmalarda NOS inhibitörleri deneklere hangi dozda olsun daima sabit dozlarla uygulanmıştır. Bu sabit doz NOS inhibitörü uygulaması modeli, esansiyel hipertansiyonda NO

sentezindeki tedrici bir azalmayı taklit etmemektedir. Bu çalışmada NOS inhibitörü L-NNA giderek artan dozlarda uygulanarak esansiyel hipertansiyonda NO seviyesinin tedrici azalması taklit edilmeye çalışılmıştır. LNNA sabit ve kademeli olarak artırılan konsantrasyonlarda uygulandığında her iki grubun kan basınçları doz ve zaman bağımlı olarak artmıştır. Her iki grupta da plazma NO_x seviyelerindeki anlamlı azalma NOS inhibisyonunu destekler. Ancak, her iki farklı uygulama sürecinde ve deney sonunda sıçanların kalp atım hızları arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. NOS inhibitörleri çok yüksek dozlarda (yaklaşık 100 mg/kg/gün) uygulandığında kan basıncı artmasına rağmen kalp hızının değişmediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (19,20). Ancak NOS inhibitörleri 10-60 mg/kg/gün doz aralığında uygulandığında kan basıncı artarken kalp hızı daima anlamlı olarak düşmüştür: Bu kalp hızı düşüşünün artan kan basıncına refleksi bir cevap olduğu kanısı yaygındır (21-24). Bu çalışmada, her iki grup, uygulama sonunda total olarak yaklaşık aynı doz L-NNA almalarına rağmen, bu doz bir gruba her gün sabit, diğer gruba ise her hafta kademeli olarak artırılarak uygulanmıştır. Sabit doz uygulanan grupta kan basıncı artarken kalp hızı düşmüş, kademeli doz uygulanan grupta ise kan basıncı artmasına rağmen kalp hızında bir düşüş olmamıştır. Bu bulgu, L-NNA'nın kademeli uygulanmasıyla, NOS inhibisyonuyla oluşturulan hipertansiyonda gelişmesi beklenen kalp hızı refleksi cevabına karşı bir adaptasyon sürecinin gelişebileceğine işaret

etmektedir. Esasen, esansiyel hipertansif kişilerde kalp hızının genellikle arttığı ya da değişmediği iyi bilinmektedir (25,26). NO sentez ve/veya salıverilmesinin azalması esansiyel hipertansiyon patojeneziyle ilişkili ise, bu azalmanın deneysel NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda olduğu gibi ani ve sabit değil ve/fakat ılımlı başlaması ve progresif olması beklenir. Bu çalışmada L-NNA'nın kademeli olarak artan konsantrasyonlarda uygulanmasının nedeni, gelişen hipertansiyonun esansiyel hipertansiyon modeliyle daha ilişkili olabileceği kanısıdır.

Yüksek doz NOS inhibisyonunda kardiyovasküler ve böbrek dokularında yapısal hasar geliştiği ve bu hasarın hipertansiyona katkısı olduğu ileri sürülmektedir (8). B/V indeksleri hesaplanan sıçanlarda renal hipertrofi ve vücut ağırlığı artışında bir değişiklik tespit edilmemesi dokularda oluşabilecek bir hasarın kan basıncına muhtemel bir katkısını dışlar görünmektedir.

Sonuç olarak, NOS inhibisyonunun kademeli olarak artırılmasıyla kan basıncı artmasına rağmen kalp hızının düşmediğinin tespit edildiği bu çalışma, bu modelin sabit doz NOS inhibitörü uygulamalarına göre esansiyel hipertansiyonla daha ilişkili olabileceğine ilk defa işaret etmektedir. Kademeli NOS inhibisyonunun esansiyel hipertansiyonla ilişkilendirilebilmesi için ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Yılmaz G, Aksulu HE, Demirel E, et al. Modulation by endothelium of the vascular effects of angiotensin II. *Agents Actions* 1987; 21: 184-190.
2. 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.
3. Aksulu HE, Cellek S, Turker RK. Cholesterol feeding attenuates endothelium-dependent relaxation response to acetylcholine in the main pulmonary artery of chickens. *Eur J Pharmacol* 1986; 129: 397-400.
4. Linder L, Kiowski W, Buhler FR, Luscher TF. Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo. Blunted response in essential hypertension. *Circulation* 1990; 81: 1762-1767.
5. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide. physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142.
6. Ribeiro MO, Antunes E, de Nucci G, Lovisolo SM, Zatz R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension* 1992; 20: 298-303.
7. Tugrul I, Oktar S, Deniz E, Yılmaz, E, Aksulu HE. NOS inhibition mediated hypertension: High and low doses of L-NNA administration. In Turkish Pharmacological Society, 17th National Congress of Pharmacology, Antalya/TURKEY, 2003.
8. Zatz R, Baylis C. Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension* 1998; 32: 958-964.
9. Yuasa S, Li X, Hitomi H, et al. Sodium sensitivity and sympathetic nervous system in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27: 18-24.
10. Vapaatalo H, Mervaala E, Nurminen ML. Role of endothelium and nitric oxide in experimental hypertension. *Physiol Res* 2000; 49: 1-10.
11. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, et al. Age-related reduction of NO availability and oxidative stress in humans. *Hypertension* 2001; 38: 274-279.
12. Zavaroni I, Ardigo D, Rossi PC, et al. Relationship between plasma nitric oxide concentration and insulin resistance in essential hypertension. *Am J Hypertens* 2004; 17: 549-552.
13. Yılmaz E. Sıçanlarda Plazma Nitrik Oksit Düzeylerinin Ölçümü: Elektrokimyasal ve Spektrofotometrik Yöntemlerin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, 2004.
14. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 36: 1440-1443.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. Izzo JL, Black HR. Primer Hipertansiyon. Kazancı G (Çeviren). 3.Baskı, İstanbul: Nobel, 2004.
19. Scrogin KE, Hatton DC, Chi Y, Luft FC. Chronic nitric oxide inhibition with L-NAME: effects on autonomic control of the cardiovascular system. *Am J Physiol* 1998; 274: 367-374.
20. Okazaki H, Minamino T, Tsukamoto O, et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker prevents atrial structural remodeling in rats with hypertension induced by chronic nitric oxide inhibition. *Hypertens Res* 2006; 29: 277-284.

21. Hu L, Manning RD, Jr, Brands MW. Long-term cardiovascular role of nitric oxide in conscious rats. *Hypertension* 1994; 23: 185-194.
22. Loichot C, Cazaubon C, Grima M, et al. Vasopressin does not effect hypertension caused by long-term nitric oxide inhibition. *Hypertension* 2000; 35: 602-608.
23. Dananberg J, Sider RS, Grekin RJ. Sustained hypertension induced by orally administered nitro-L-arginine. *Hypertension* 1993; 21: 359-363.
24. Matsuoka H, Nishida H, Nomura G, Van Vliet BN, Toshima H. Hypertension induced by nitric oxide synthesis inhibition is renal nerve dependent. *Hypertension* 1994; 23: 971-975.
25. Ferrieres J, Ruidavets JB. Association between resting heart rate and hypertension treatment in a general population. *Am J Hypertens* 1999; 12: 628-631.
26. Grassi G, Cattaneo BM, Seravalle G, Lanfranchi A, Mancia G. Baroreflex control of sympathetic nerve activity in essential and secondary hypertension. *Hypertension* 1998; 31: 68-72.

Kabul Tarihi: 17.05.2007