

## Nefrektomi yapılmadan oluşturulan DOCA-tuz modelinin kan basıncı, kalp ve böbrek işlevlerine etkisi

The effect of DOCA-salt model without nephrectomy on blood pressure, heart and kidney functions

Nur Banu BAL<sup>1</sup> (ID), Orhan Mecit ULUDAĞ<sup>1</sup> (ID), Emine DEMİREL YILMAZ<sup>2</sup> (ID)

### ÖZET

**Amaç:** Hipertansiyon, gelişiminde pek çok faktörün rol oynadığı, en yaygın kardiyovasküler hastalıktır. Deoksikortikosteron asetat (DOCA)-tuz modeli, esansiyel hipertansiyonun patogenezinin araştırılmasında oldukça sık kullanılan bir deneysel modeldir. Bu model, insanlardaki esansiyel hipertansiyonu başarılı bir şekilde taklit edebilmektedir. Ancak tek taraflı nefrektomi uygulaması ile hızlı ve şiddetli kan basıncı artışı oluşturması, çoğu hipertansif hastadaki klinik durumu tam olarak yansıtmamaktadır. Bu çalışmada, nefrektomi yapılmadan uzun süre DOCA-tuz uygulamasının sıçanların kan basıncı, vücut ağırlığı, kalp ve böbrek işlevleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

**Yöntem:** Çalışmada erkek Wistar Albino sıçanlar (8 haftalık) kullanılmıştır. DOCA-tuz hipertansiyon modelini oluşturmak için 12 hafta boyunca sıçanlara haftada iki kez DOCA enjeksiyonu (20 mg/kg, s.c.) yapılmış ve içme sularına tuz (%1 NaCl ve %0,2 KCl) eklenmiştir. Sıçanların sistolik kan basınçları ve vücut ağırlıkları her hafta ölçülmüştür. Deneyin sonunda anestezi altındaki

### ABSTRACT

**Objective:** Hypertension is one of the common cardiovascular diseases in which many factors play a role in its development. The deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt model is an experimental model that is widely used in the investigation of the pathogenesis of essential hypertension. Although this model can successfully mimic essential hypertension in humans, both the rate and magnitude of blood pressure increase with unilateral nephrectomy does not fully reflects the clinical situation in most hypertensive patients. In this study, it was investigated the effects of prolonged administration of DOCA-salt without nephrectomy on blood pressure, body weight, heart and kidney functions of rats.

**Methods:** Male Wistar Albino rats (8-week-old) were used in the study. DOCA-salt hypertension model was induced by DOCA injection (20 mg/kg, s.c.) twice a week and and by adding salt (1% NaCl and 0.2% KCl) to drinking water for 12 weeks. Systolic blood pressures and body weights of all rats were measured weekly. At the end of the experiment, blood samples were taken from anesthetized rats, centrifuged, and plasma was

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji AD., Ankara  
<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji AD., Ankara



İletişim / Corresponding Author : Nur Banu BAL  
Emniyet Mahallesi Taç Sokak No: 3 Yenimahalle Ankara - Türkiye  
E-posta / E-mail : nurbanubal@gazi.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 29.04.2021  
Kabul Tarihi / Accepted : 12.04.2022

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2022.43925

Bal NB, Uludağ OM, Demirel Yılmaz E. Nefrektomi yapılmadan oluşturulan DOCA-tuz modelinin kan basıncı, kalp ve böbrek işlevlerine etkisi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2022; 79(3): 485 - 496

sıçanlardan kan örnekleri alınarak santrifüjlenmiş ve plazma elde edilmiştir. Sıçanların sağ atriyum ve sol papiller kas dokuları izole edilmiş ve dokuların fenilefrin, izoprenalin ve asetilkolin uygulanmasına bağlı kasılma cevapları ile ritmik aktivitesi organ banyosunda kaydedilmiştir. Plazma örneklerinde kan üre azotu (BUN) ve kreatinin düzeyleri ölçülmüştür.

**Bulgular:** Nefrektomi yapılmadan 12 hafta süreyle DOCA-tuz uygulaması, sıçanların kan basıncında anlamlı olarak yükselmeye neden olmuştur. Hipertansif sıçanlarda sağ atriyumun fenilefrinle uyarılan alfa adrenerjik reseptör aracılı kasılma cevapları artmış, izoprenalinle oluşturulan beta adrenerjik reseptör aracılı kasılma cevabı azalmış ve asetilkolin cevapları değişmemiştir. DOCA-tuz uygulaması sıçanların plazma BUN ve kreatinin düzeylerini yükseltmiştir.

**Sonuç:** Elde edilen sonuçlar; nefrektomi yapılmadan 12 hafta boyunca DOCA-tuz uygulamasının, hipertansiyonla ilişkili kardiyak ve renal değişikliklere neden olduğunu ve noninvaziv hayvan modeli olarak hipertansiyon çalışmalarında kullanılabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** DOCA-tuz, hipertansiyon, nefrektomi, kalp, böbrek

collected. Right atrium and left papillary muscle tissues were isolated from rats. Isoprenaline, phenylephrine and acetylcholine-induced rhythmic activity and contractions of tissues were recorded in organ bath. Blood urea nitrogen (BUN) and creatinine levels were measured in plasma samples.

**Results:** 12 weeks DOCA-salt administration without nephrectomy were significantly elevated systolic blood pressure of rats. The DOCA-salt application did not cause a decrease in the body weight of the rats. While the right atrium was not affected to acetylcholine; the phenylephrine-induced alpha adrenergic receptor mediated contractile responses were increased and the isoprenaline-induced beta adrenergic receptor-mediated contractile responses were decreased in hypertensive rats. The DOCA-salt administration increased plasma BUN and creatinine levels of rats.

**Conclusion:** These findings suggest that 12 weeks DOCA-salt administration without nephrectomy caused cardiac and renal changes associated with hypertension and could be used in hypertension studies as a noninvasive animal model.

**Key Words:** DOCA-salt, hypertension, nephrectomy, heart, kidney

## GİRİŞ

Hipertansiyon patogenezinde genetik ve çevresel birçok faktörün rol oynadığı tüm dünyada yaygın görülen hastalıklardan biridir. Hipertansif hasta sayısının 2025 yılında, özellikle ekonomik olarak gelişmekte olan ülkelerde yaklaşık %60 artarak toplam 1,56 milyara çıkacağı öngörülmektedir (1,2). Bilindiği gibi hipertansiyon kardiyovasküler, renal ve santral kaynaklı birçok hastalık için önemli bir risk faktörüdür (3). Bu nedenle hipertansiyon ve

hipertansiyonla ilişkili hastalıkların tedavisine yönelik çalışmaların yapılması morbidite ve mortalitenin de azaltılması açısından büyük önem arz etmektedir.

Hipertansif hastaların yaklaşık %95'ni esansiyel hipertansiyon oluşturmaktadır, fakat esansiyel hipertansiyonun etiyojisi hala tam olarak anlaşılammıştır (4). Daha önce yapılan çalışmalarda esansiyel hipertansiyonun gelişiminde sempatik sinir sistemi aktivitesinin artışı, sodyum tutulumuna yol açan hormonların aşırı üretimi, aşırı/uygunsuz renin salgılanması gibi birçok patofizyolojik olayın

rol oynadığı bildirilmiştir (5). Hipertansiyonun patogenezinin aydınlatılması ve yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesi için deneysel hayvan modelleri araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (6). Hem sempatik sistemin hem de renin-anjiyotensin sisteminin düzenlenmesinin bozulduğu DOCA-tuz modeli esansiyel hipertansiyonun patogenezinin araştırılmasında başarılı bir model olarak görülmektedir. Bu hastalık modelinde daha çok sıçanlar kullanılmasına rağmen fare, köpek, koyun ve domuz gibi birçok farklı türde de başarılı bir şekilde model oluşturulabilmektedir (6).

DOCA-tuz modelinde, çalışmada kullanılan hayvan türü ve çalışmanın amacına göre sentetik mineralokortikoid türevi olan DOCA 20-150 mg/kg doz aralığında enjeksiyonla veya pellet şeklinde subkütan yoldan uygulanmaktadır. Ayrıca içme suyuna %0.6-1 oranında NaCl eklenmesi ve tek böbreğin çıkarılmasıyla (genellikle sol böbrek) hipertansiyon gelişimi tetiklenmektedir (6-9). Tek böbreği çıkarılmış sıçanlara DOCA uygulaması ile birlikte içme suyuna tuz eklenmesi renal sodyum reabsorpsiyonunu artırmakta ve hipervolemiye neden olmaktadır. Bu durum damar düz kas tonusu ve periferik damar direncinin artışına, baroreflaks mekanizmanın bozulmasıyla sempatik sisteminin fazla aktivasyonuna ve dolayısıyla kan basıncının yükselmesine yol açmaktadır (8). Bu modelde hızlı yükselen kan basıncı birçok organda kısa zaman içinde hasara neden olmaktadır. Kalpte hipertrofi ve fibrozis gelişimi kardiyak işlev bozukluğuna yol açmaktadır (10-12). Nitrik oksit biyoyararlanımının azalması, endotelin-1 ve süperoksit üretiminin artışı, vasküler fibrozis ve inflamasyon gelişimi damar hasarına neden olmaktadır (7,13,14). Böbrekte glomerüler skleroz, interstisyel fibrozis, hücre proliferasyonu ve inflamasyon görülmektedir (12,15,16). Kan basıncı artışıyla ortaya çıkan bu değişikliklerin çoğu yine kan basıncının yüksek seyretmesine de katkıda bulunmaktadır. Bu modelde ayrıca genellikle vücut yağ oranında ve vücut ağırlığında azalma gözlenmektedir (11,13,17).

DOCA-tuz modelinde hipertansiyon ile birlikte gelişen kardiyovasküler ve renal yeniden yapılanma, hipertansiyonlu ve kalp/böbrek yetmezliği olan hasta bireylerde de meydana gelmektedir. Dolayısıyla, DOCA-tuz modeli hipertansiyonu başarılı bir şekilde taklit ederek, hipertansiyon ve hipertansiyonla ilişkili hastalıkların patogenezinin incelenmesine olanak sağlamaktadır. Fakat hipertansiyonunun gelişiminin belirli nedenlerini araştırmak için bu model kullanıldığında bazı dezavantajları olduğu da bilinmektedir. Bu modelde olduğu gibi hipertansif bireylerin çoğunlukla tek böbreğe sahip olmadıkları bilinmektedir. Ayrıca modelde hipertansif hayvanların vücut ağırlığında azalma gözlenmesi hipertansif hastaların kliniğine genellikle uymamaktadır. Bunun yanında DOCA-tuz modelinde birkaç hafta içinde şiddetli hipertansiyon gelişmektedir. Fakat bu model hem gelişme hızı hem şiddeti bakımından birçok hipertansif hastadaki kan basıncı artışını tam olarak yansıtmamaktadır. Genellikle tek böbrek çıkarılarak oluşturulan bu modelde, tedavi amacıyla kullanılan renal yoldan itrah edilen bileşiklerin eliminasyonunun da nefrektomi ile değişebileceği gözden kaçırılmaktadır.

Bu hipertansiyon modelinde nefrektominin ardından sıçanlara DOCA-tuz uygulaması genellikle 3-6 hafta süreyle yapılmaktadır. Birçok çalışmada dört haftalık DOCA-tuz uygulamasının sistolik kan basıncını anlamlı olarak artırmak için yeterli olduğu görülmüştür. Literatürde daha uzun süreli DOCA-tuz uygulamasının yapıldığı çalışma sayısı azdır (8). Bu çalışmada, standart DOCA-tuz modelinden daha yavaş ve daha az şiddette seyreden ve daha uzun süreli kan basıncı artışının olduğu bir hipertansiyon modeli oluşturmak amaçlanmıştır. Tek taraflı nefrektomi uygulamasının yapıldığı standart DOCA-tuz modelinden farklı olarak, bu çalışmada nefrektomi yapılmadan sadece uzun süreli (12 hafta) DOCA-tuz uygulamasıyla, noninvaziv kronik hipertansiyon hayvan modeli oluşturulmuş ve sıçanların kan basıncı, vücut ağırlığı, kalp ve böbrek işlevlerindeki değişiklikler incelenmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Kimyasallar

Tüm kimyasal maddeler Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA) şirketinden alınmıştır. DOCA, 20 mg/ml konsantrasyonda mısır yağı içerisinde uygulanacağı gün taze olarak hazırlanmıştır.

### Hayvanların bakımı

Bu çalışmanın deney protokolü Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylanmıştır (Tarih: 26.01.2021 ve Karar No: E-66332047-604.01.02-21096). Çalışmada Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den temin edilen, 8 haftalık Wistar albino cinsi erkek sıçanlar (200-220gr) kullanılmıştır. Tüm hayvanlar çalışma boyunca deney hayvanı laboratuvarında, 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık periyodunda, (22±1) °C oda sıcaklığında barındırılmıştır. Sıçanlar musluk suyu ve standart pellet yem ile beslenmiştir.

### DOCA-tuz hipertansiyon modelinin oluşturulması

Sıçanlar rastgele 2 gruba ayrılmıştır: I. grup; Kontrol (n:4), II. grup; DOCA-tuz (n:4).

DOCA-tuz grubundaki sıçanlara, haftada iki kez 20 mg/kg dozunda DOCA subkütan yoldan uygulanmış ve içme sularına %1 NaCl ve %0,2 KCl ilave edilmiştir. DOCA enjeksiyonu ve içme suyuna tuz eklenmesi 12 hafta boyunca yapılmıştır. Kontrol grubuna herhangi bir madde uygulaması yapılmamış, içme suyu olarak musluk suyu verilmiştir. DOCA mısır yağı içerisinde hazırlanmıştır.

### Sistolik kan basıncı ölçümü ve ağırlık takibi

Tüm sıçanların sistolik kan basınçları her hafta noninvaziv kan basıncı ölçme yöntemi (Tail Cuff) ile ölçülmüştür (NIBP200A, COMMAT (BIOPAC), Türkiye). Çalışmaya başlamadan önce hayvanların kan basıncı ölçümü sırasında yaşayacağı stresi en eza indirmek için alıştırma ölçümleri yapılmıştır. Daha sonra tüm hayvanların 0. Hafta ölçümü yapılarak normotansif olan sıçanlar deneye dahil edilmiştir. Hayvanlar ölçümden önce ısıtma kabininde ısıtılmış ve daha sonra ölçüm kutularına yerleştirilmiştir. Sakin ve hareketsiz olan

sıçanların kan basınçları kuyruklarından ölçülmüştür. Her kan basıncı ölçüm zamanında, her bir sıçan için en az 5-6 ölçüm alınmış ve bu değerlerin ortalaması sistolik kan basıncı olarak kaydedilmiştir. Sıçanların vücut ağırlıkları da takip edilmiştir.

### İzole organ banyosu deneyleri

Ketamin (60 mg/kg), ksilazin (10 mg/kg) ve heparin (0,2 ml/kg) kombinasyonu ile anestezi edilen sıçanların göğüs kafesleri açıldıktan sonra hızlı bir şekilde vena cava superior bağlanıp sağ atriyum kesilerek çıkarılmış ve önceden soğutulmuş ve gazlandırılmış Krebs solüsyonu (mM: NaCl 119; NaHCO<sub>3</sub> 25; KCl 4,6; MgCl<sub>2</sub> 1,2; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2; CaCl<sub>2</sub> 2; H<sub>2</sub>O 2,5; monohidratglukoz 11) içine alınmıştır. Daha sonra kalbin geri kalan kısmı kesilerek çıkarılmış ve sol ventrikül dokusundan papiller kaslar izole edilmiştir. Ardından dokular hızla sisteme asılmış ve 2g ön gerim verilmiştir. Papiller kaslar stimülatör ile uyarılmıştır (1Hz, 1ms, eşik voltaj değerinin %20 fazlası voltaj). Sağ atriyum ve papiller kas dokuları 40 dakikalık dengelenme süresi boyunca, 10 dakikada bir Krebs çözeltisiyle yıkanmıştır. Dengelenme sürecinin ardından dokuların izoprenalin (10<sup>-11</sup> - 10<sup>-7</sup> M), asetilkolin (10<sup>-8</sup> - 10<sup>-5</sup>) ve fenilefrin (10<sup>-8</sup> - 10<sup>-5</sup>) kümülatif dozlarına verdiği kasılma ve kalp atım hızı cevapları kaydedilmiştir.

### Plazma BUN ve kreatinin ölçümü

Plazma BUN ve kreatinin düzeylerinin ölçümü, enzimatik yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### İstatistiksel analiz

Tüm bulgular ortalama ± SEM şeklinde ifade edilmiştir. Kasılma ve kalp atım hızı cevapları "baseline" cevapların yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Kan basıncı ve vücut ağırlığı değerleri ile izole organ banyosu çalışmalarından elde edilen verilerin istatistiksel analizinde Repeated-measures Two-way ANOVA ve ardından Bonferroni testi kullanılmıştır. Plazma BUN ve kreatinin ölçümlerinin analizi Student t testi kullanılarak yapılmıştır. Tüm analizlerde p<0,05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

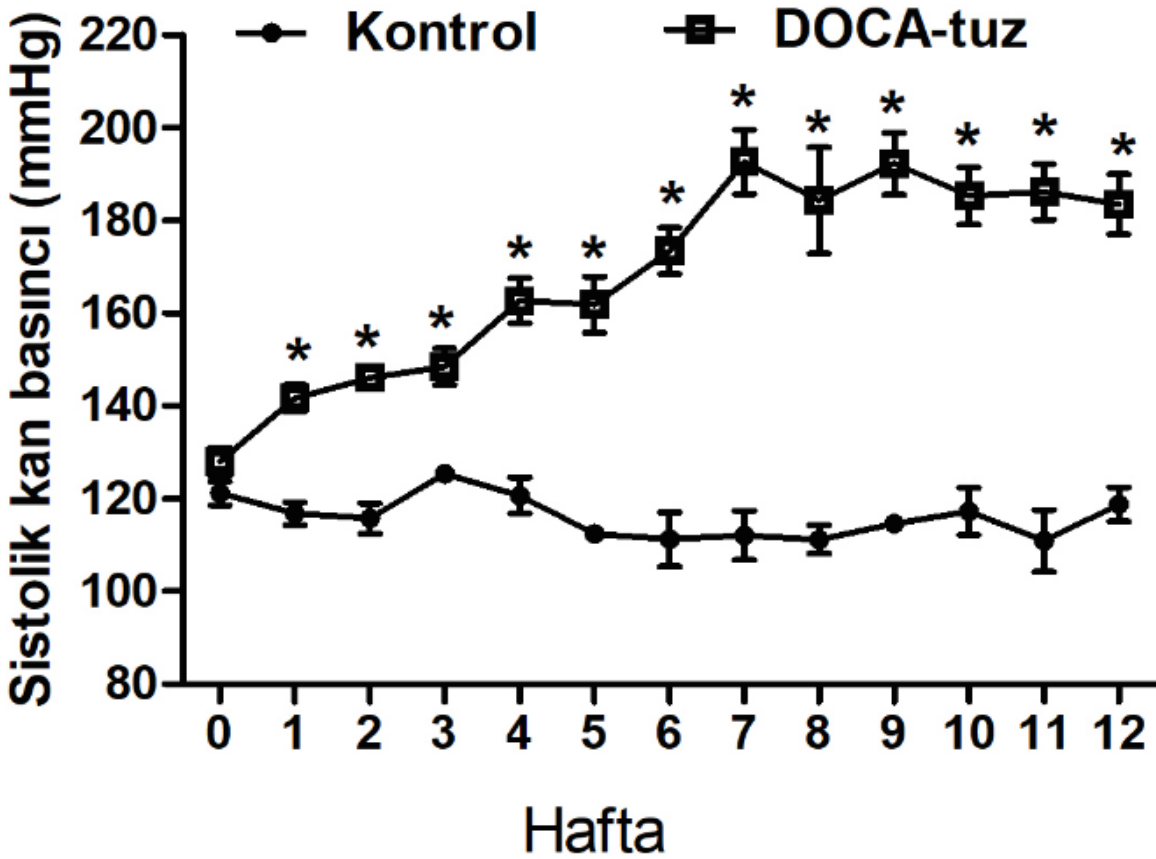
## BULGULAR

DOCA-tuz grubunda yer alan sıçanların sistolik kan basıncı ilk haftadan itibaren yükselmeye başlamış ve 12 hafta boyunca kontrol grubuna göre yüksek seyretmiştir ( $p<0,05$ ) (Şekil 1).

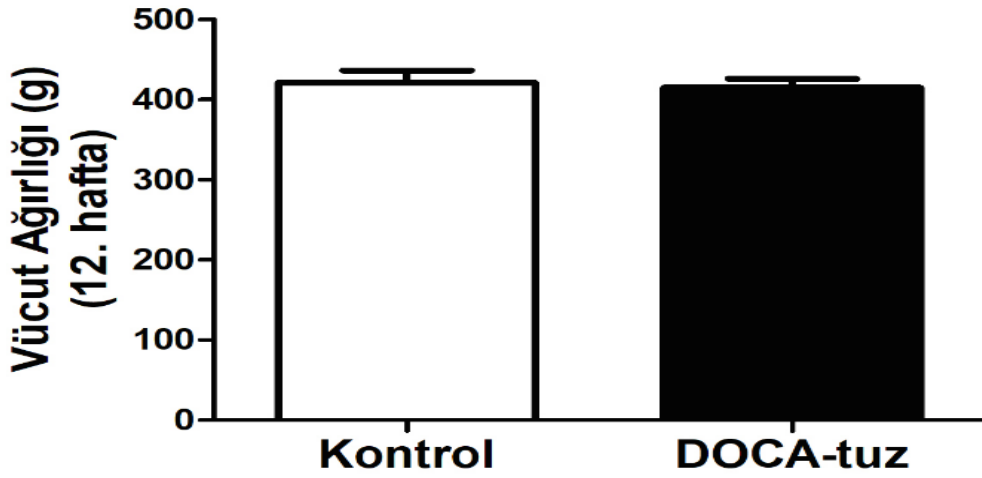
Daha önce nefrektomi uygulayarak oluşturduğumuz modellerin aksine (11,13), nefrektomi yapılmadan oluşturulan bu DOCA-tuz

modeli, sıçanların vücut ağırlıklarında azalmaya neden olmamıştır ( $p>0,05$ ) (Şekil 2).

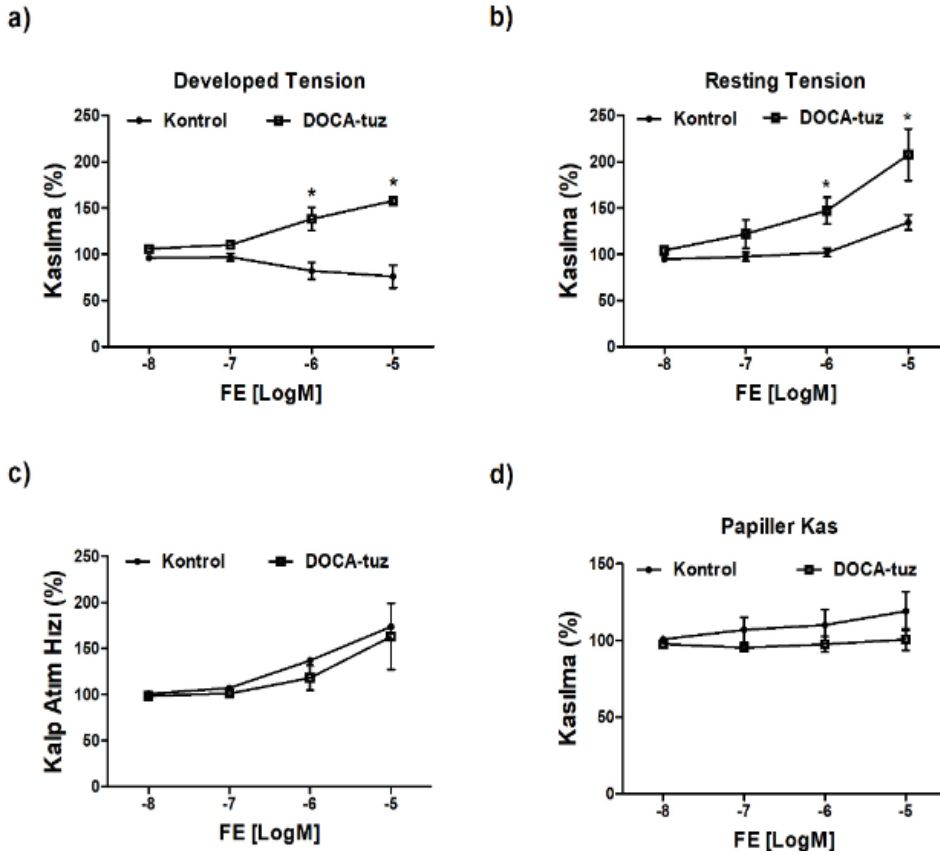
DOCA-tuz hipertansif sıçanların fenilefrinle ( $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M) uyarılan sağ atriyum kasılma cevapları kontrol grubundan yüksektir ( $p>0,05$ ). Fenilefrinle ile indüklenen sağ atriyumun ritmik aktivitesi ile papiller kas kasılma cevapları her iki grupta benzerdir ( $p>0,05$ ) (Şekil 3).



Şekil 1. Nefrektomi yapılmadan 12 hafta süreyle DOCA-tuz uygulamasının sistolik kan basıncı üzerine etkisi. DOCA-tuz uygulaması sistolik kan basıncını anlamlı olarak artırmıştır. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM şeklinde ifade edilmiştir. \*  $p<0,05$  (n=4).



Şekil 2. Nefrektomi yapılmadan 12 hafta süreyle DOCA-tuz uygulamasının vücut ağırlığı üzerine etkisi. DOCA-tuz hipertansif sıçanların vücut ağırlıkları kontrol grubuyla benzerdir. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM şeklinde gösterilmiştir.  $p>0,05$  (n=4).

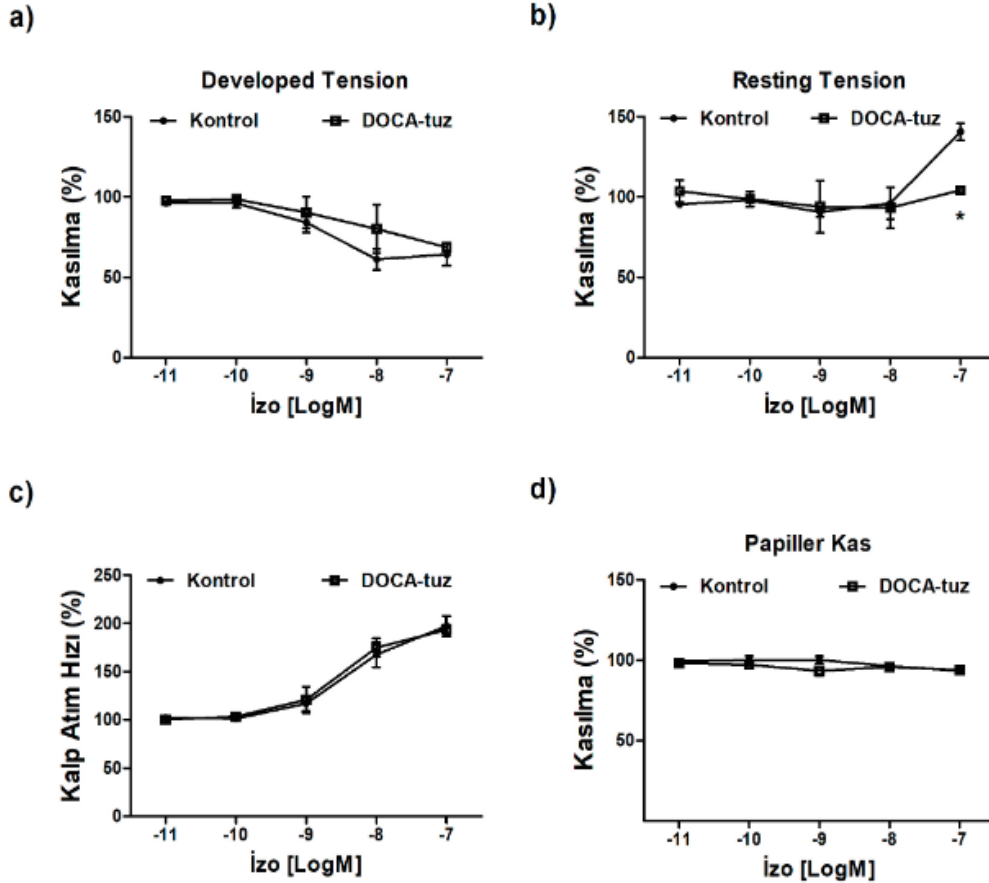


Şekil 3. Sağ atriyum ve sol ventrikül papiller kasında fenilefrin (FE) konsantrasyonuna bağlı % kasılma ve kalp atım hızı cevapları. a) Sağ atriyum “developed tension” b) Sağ atriyum “resting tension” c) Sağ atriyum sinüs ritmi d) Sol ventrikül papiller kas kasılması. Fenilefrinle ( $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M) uyarılan sağ atriyum kasılma cevapları hipertansif sıçanlarda kontrol grubundan yüksektir. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM şeklinde ifade edilmiştir. \*  $p<0.05$  (n=4)

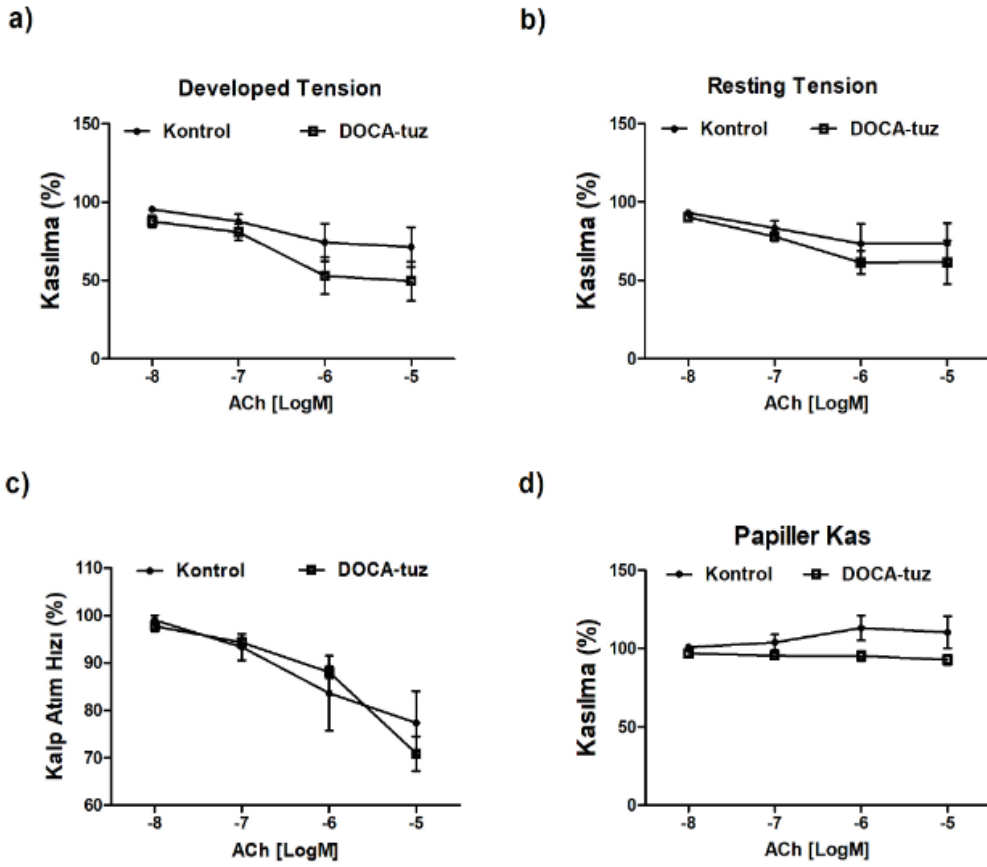
İzoprenalinin en yüksek konsantrasyonunun ( $10^{-7}$  M) oluşturduğu sağ atriyum kasılma cevabının (resting tension) hipertansif grupta kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gösterilmiştir ( $p < 0,05$ ). İzoprenalilin ile indüklenen sağ atriyumun ritmik aktivitesi ile sol ventrikülün kasılma cevapları her iki grupta benzerdir ( $p > 0,05$ ) (Şekil 4).

Asetilkolin ile uyarılan sağ atriyumun kasılma cevapları ve ritmik aktivitesi kontrol grubuyla DOCA-tuz grubunda benzer bulunmuştur ( $p > 0,05$ ) (Şekil 5).

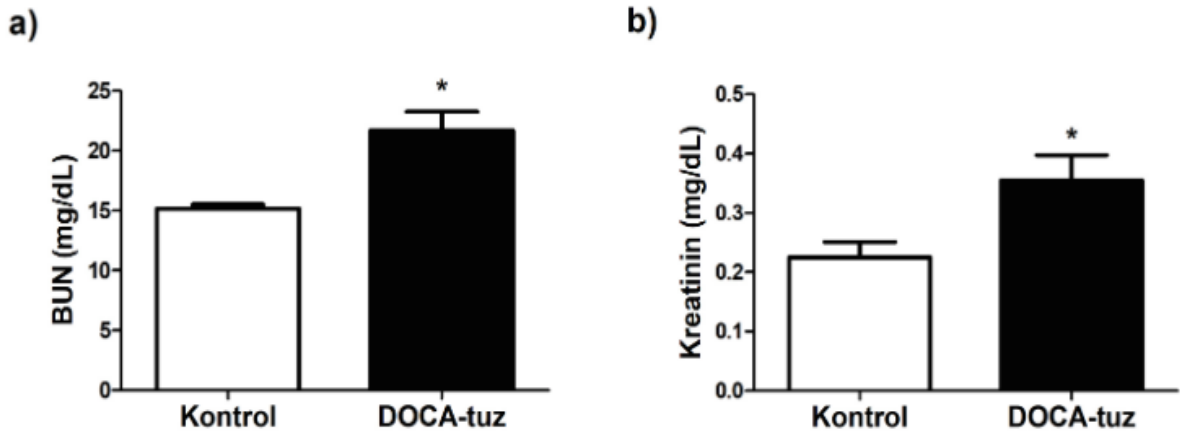
Böbrek işlevlerinin göstergesi olarak kullanılan plazma BUN ve kreatinin düzeylerinin DOCA-tuz hipertansif sıçanlarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ) (Şekil 6).



Şekil 4. Sağ atriyum ve sol ventrikül papiller kasında izoprenalilin (İzo) konsantrasyonuna bağlı % kasılma ve kalp atım hızı cevapları. a) Sağ atriyum “developed tension” b) Sağ atriyum “resting tension” c) Sağ atriyum sinüs ritmi d) Sol ventrikül papiller kas kasılması. İzoprenalinin ( $10^{-5}$  M) oluşturduğu sağ atriyum kasılma cevabı (resting tension) hipertansif grupta kontrol grubuna göre daha düşüktür. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM şeklinde ifade edilmiştir. \*  $p < 0.05$  (n=4).



**Şekil 5.** Sağ atriyum ve sol ventrikül papiller kasında asetilkolin (ACh) konsantrasyonuna bağlı % kasılma ve kalp atım hızı cevapları. a) Sağ atriyum “developed tension” b) Sağ atriyum “resting tension” c) Sağ atriyum sinüs ritmi d) Sol ventrikül papiller kas kasılması. Sağ atriyumda asetilkolinin oluşturduğu kasılma ve ritmik aktivite cevapları her iki grupta benzerdir. Asetilkolin papiller kasta anlamlı bir etki oluşturmamıştır. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM şeklinde ifade edilmiştir.  $p > 0.05$  ( $n=4$ ).



**Şekil 6.** Nefrektomi yapılmadan 12 hafta süreyle DOCA-tuz uygulamasının plazma BUN ve kreatinin seviyelerine etkisi. a) Plazma BUN seviyesi, b) Plazma kreatinin seviyesi. DOCA-tuz hipertansif sıçanların plazma BUN ve kreatinin düzeyleri kontrol grubundan daha yüksektir. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM şeklinde gösterilmiştir. \*  $p < 0,05$  ( $n=4$ ).



## TARTIŞMA

Bu çalışmada; nefrektomi yapılmadan 12 hafta boyunca DOCA-tuz uygulamasının, sistolik kan basıncını yükselttiği, vücut ağırlığında azalma oluşturmadığı, fenilefrin ve izoprenalın ile uyarılan sağ atriyum ve papiller kas cevaplarını değiştirdiği; fakat sağ atriyum ritmik aktivesini etkilemediği; plazma BUN ve kreatinin düzeylerini yükselttiği; ortaya konmuştur.

DOCA-tuz modeli ilk defa 1970'li yıllarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılmış ve halen de küçük değişiklikler yapılarak kullanılmaya devam etmektedir. Böbrek kitlesinin azaltılması ile birlikte DOCA uygulaması ve içme suyunda tuz verilmesi kan basıncının yükselmesine neden olmaktadır. DOCA-tuz hipertansiyon modeli, ilk birkaç gün içinde kan basıncında belirgin bir artışın olduğu "erken faz" ve sonrasında kan basıncının haftalarca yüksek seyrettiği "kronik faz"dan oluşmaktadır (8). Literatür incelendiğinde çoğunlukla tek taraflı nefrektomi ile birlikte DOCA enjeksiyonu (genellikle 20-60mg/kg) ve içme suyunda tuz (NaCl/KCl) uygulamasının 3-12 hafta yapıldığı, bu uygulamaların 3. haftasında kan basıncının hızla yükselerek 170 mm Hg'yi geçtiği görülmektedir (13,14,18-21). Kısa sürede kan basıncının bu kadar hızlı yükselmesi hipertansif hastalardaki kan basıncı artışını tam olarak yansıtmamaktadır. Bu nedenle klinik duruma uygunluk açısından deneysel modelde bazı değişikliklerin yapılmasının önemli ve gerekli olduğu düşünülmüş ve nefrektomi yapılmadan uzun süreli (12 hafta) DOCA-tuz uygulaması ile hipertansiyon modeli oluşturulmuştur.

Çalışmada hipertansif DOCA-tuz grubundaki sıçanların sistolik kan basıncı ilk haftadan itibaren yükselmeye başlamış ve 3. Haftada 140 mm Hg'nin, 7. haftada 180 mmHg'nin üzerine çıkmış ve 12. Haftanın sonuna kadar 180-200 mm Hg aralığında seyretmiştir. Bu bulgu Wistar sıçanlarda aynı süre (12 hafta) ve dozda (20 mg/kg) DOCA-tuz uygulamasının yapıldığı çalışma ile de uyumludur (12). Daha

önce ekibimiz ve diğer araştırmacıların yaptığı nefrektomi ve 12 hafta DOCA-tuz uygulaması ile oluşturulan modellerle kıyaslandığında, nefrektomi uygulamadan oluşturduğumuz modelimizde kan basıncı artış hızı ve şiddetinin daha düşük olduğu gözlenmiştir (13,14,21). Bunun yanında ekibimiz tarafından nefrektomi yapılarak aynı süre ve aynı dozda DOCA ve tuz uygulaması ile hipertansiyon modeli oluşturduğumuz çalışmamızda 8. haftadan itibaren ölümler gözlenmiş (muhtemelen patolojinin ağırlaşması nedeniyle) ve çalışmanın sonunda (12. hafta) yaklaşık %25 hayvan kaybı olmuştur (13). Nefrektomi yapmadan oluşturduğumuz bu modelde çalışmanın sonuna kadar (12 Hafta) hayvan kaybı olmamıştır. Ayrıca nefrektomi yapılmadan daha kısa süreli (5 hafta) daha yüksek dozda DOCA (50 mg/kg) ve NaCl uygulamasının kullanıldığı başka bir çalışmada kan basıncının anlamlı olarak yükseldiği bildirilmiştir (22). Bu veriler nefrektomi uygulaması yapılmadan da uzun süreli DOCA-tuz uygulaması ile kliniğe daha uygun bir seyrinde kan basıncı artışı ile hipertansiyon modelinin oluşturulabileceğini göstermektedir.

DOCA-tuz modelinde hipertansif hayvanların vücut ağırlıklarının daha düşük seyrettiği birçok çalışmada bildirilmiştir (11,13,17,20,21). Bu durumun da idrarla protein atılımında artışla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (17). Bu çalışmada 12 hafta DOCA-tuz uygulaması yapılan hipertansif sıçanların vücut ağırlığında bir azalma gözlenmemiştir. Nefrektomi yapmadan 12 hafta DOCA-tuz uygulaması yapan Kubacka ve arkadaşları ve 5 hafta DOCA-tuz uygulaması yapan Yao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda da sıçanların vücut ağırlığında azalma olmadığı bildirilmiştir (12,22). Hipertansif bireylerde kilo kaybı sık gözlenen bir durum değildir. Verilerimiz, nefrektomisiz DOCA-tuz uygulamasıyla oluşturulan hipertansiyon modelinin, klinikteki durumu daha iyi yansıtabileceğini göstermektedir.

DOCA-tuz modelinde hipertansiyon ile birlikte kardiyovasküler yeniden yapılanma da (genellikle uyarılma-kasılma bozuklukları, hipertrofi, fibrozis, endotel işlev bozukluğu gibi) indüklenmektedir

(10,11,13). Kardiyak işlev bozukluğu, hipertansiyon gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde ve ilerleyişinde önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada, nefrektomisz DOCA-tuz uygulamasıyla oluşturulan hipertansiyon modelinde kardiyak işlev bozukluğu izole dokularda izoprenalin, fenilefrin ve asetilkolinin oluşturduğu cevaplar (kasılma ve ritmik aktivite) karşılaştırılarak incelenmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hipertansif sıçanlarda; fenilefrinle uyarılan alfa-1 adrenerjik reseptör aracılı sağ atriyumun kasılma cevaplarının daha yüksek olduğu, izoprenalinle oluşturulan beta reseptör aracılı sağ atriyum kasılma cevabının (resting tension) daha düşük olduğu, papiller kas kasılma yanıtları ile sağ atriyum ritmik aktivitesinin her iki uyarıyla da değişmediği gözlenmiştir. Asetilkolinin sağ atriyumun kasılma cevapları ve ritmik aktivitesinin ise her iki grupta benzer olduğu bulunmuştur. Bu bulgular hipertansiyonda kalp işlevlerinde meydana gelen bozukluklarda; sağ atriyumda daha çok alfa ve beta adrenerjik reseptör aracılı yanıtlardaki değişikliğin rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte, altta yatan mekanizmaların açıklanabilmesi için daha ileri incelemelerin yapılmasına ihtiyaç vardır.

Kan üre ve kreatinin seviyeleri böbrek işlevinin en önemli göstergeleri olarak kabul edilmektedir. Üre, protein metabolizmasının azot içeren başlıca metabolik ürünüdür. Kreatinin endojen olarak üretilen ve vücut sıvılarına salınan bir üründür. Böbrek işlevleri bozulduğunda üre, ürik asit ve kreatinin gibi maddelerin böbreklerden atılımları azalır ve bunların plazma düzeyleri artar. Daha önceki çalışmalarda hipertansif bireylerde ve hayvan modellerinde plazma üre ve kreatinin seviyelerinin yükseldiği

bildirilmiştir (22-25). Bu çalışmada nefrektomisz DOCA-tuz hipertansif sıçanların plazmalarında BUN ve kreatinin düzeylerinin yükseldiği gözlenmiştir. Bu bulgu hem nefrektomi+DOCA-tuz uygulaması ile hem de nefrektomisz DOCA-tuz uygulamasının yapıldığı çalışmalarda uyumludur (22,24,25). Verilerimiz nefrektomi uygulaması yapılmadan da uzun süreli DOCA-tuz uygulaması ile hem hipertansiyonun hem de hipertansif bireylerde sıklıkla gözlenen böbrek işlevlerinde bozulmaların gelişebileceğini göstermektedir. Ayrıca nefrektomi girişimi yapılmadan oluşturulan bu modelin, böbrek işlevlerinin yanı sıra tedavi amacıyla kullanılan renal yoldan itrah edilen maddelerin etkilerinin incelenmesi ve klinikteki durumu yansıtması açısından da daha uygun olacağı düşünülmektedir.

Elde edilen sonuçlar, nefrektomi yapılmadan 12 hafta boyunca DOCA-tuz uygulaması ile daha yavaş ve daha az şiddette seyreden kan basıncı artışının meydana geldiğini ve daha uzun süreli bir hipertansiyon modeli oluşturulduğunu göstermektedir. Ayrıca sağ atriyumda alfa ve beta adrenerjik reseptör aracılı yanıtlarda değişiklik gözlenmiş ve böbrek işlevlerinde de bozulma ortaya çıkmıştır. Bu veriler nefrektomisz oluşturulan DOCA-tuz modelinin hipertansif bireylerdeki kan basıncı seyrini daha iyi yansıttığını, vücut ağırlığında düşüşe neden olmadığını ve hipertansiyonla ilişkili kardiyak ve renal işlev değişikliğine yol açtığını göstermektedir. Nefrektomi ile birlikte genellikle 3-6 hafta DOCA-tuz uygulamasıyla oluşturulan standart modelin yerine nefrektomisz 12 hafta DOCA-tuz uygulamasıyla oluşturulan bu hipertansiyon modelinin klinikteki durumu yansıtması açısından daha uygun olacağı düşünülmektedir.

## ETİK KURUL ONAYI

\* Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 26.01.2021 ve Karar No: E-66332047-604.01.02-21096).

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* 2005; 365(9455): 217-23.
2. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redón J, Zanchetti A, Böhm M, et al. Task Force Members. ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2013; 34(28): 2159-219.
3. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J et al. Evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA* 2014 311(5): 507-20.
4. Carretero OA. and Oparil S. Essential hypertension part I: definition and etiology. *Circulation*. 2000:329-35.
5. Saxena T, Ali AO, Saxena M. Pathophysiology of essential hypertension: an update. *Expert Rev Cardioasc Ther*. 2018 Dec;16(12):879-87.
6. Lerman LO, Kurtz TW, Touyz RM, Ellison DH, Chade AR, Crowley SD, et al. Animal models of hypertension: A scientific statement from the American Heart association. *Hypertension*. 2019 Jun;73(6):e87-e120.
7. Iyer A, Chan V, Brown L. The DOCA-salt hypertensive rat as a model of cardiovascular oxidative and inflammatory stress. *Curr Cardiol Rev*. 2010;6(4):291-7.
8. Basting T. and Lazartigues E. DOCA-Salt Hypertension: an Update. *Curr Hypertens Rep*. 2017;19:32.
9. Gomez-Sanchez EP. DOCA/Salt: Much more than a model of hypertension. *J Cardioasc Pharmacol*. 2019 Nov;74(5):369-71.

10. Bal NB, Han S, Kiremitci S, Sadi G, Uludag O, Demirel-Yılmaz E. Hypertension-induced cardiac impairment is reversed by the inhibition of endoplasmic reticulum stress. *J Pharm Pharmacol.* 2019;71(12):1809-21.
11. Bal NB, Han S, Usanmaz SE, Kiremitci S, Sadi G, Uludag O, et al. Activation of liver X receptors by GW3965 attenuated deoxycorticosterone acetate-salt hypertension-induced cardiac functional and structural changes. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2019;74(2):105-17.
12. Kubacka M, Zdrożna M, Nowak B, Kotańska M, Filipek B, Waszkielewicz AM, et al. Reversal of cardiac, vascular, and renal dysfunction by non-quinazoline alpha1-adrenolytics in DOCA-salt hypertensive rats: a comparison with prazosin, a quinazoline-based alpha1-adrenoceptor antagonist. *Hypertens Res.* 2019;42(8):1125-41.
13. Han S, Bal NB, Sadi G, Usanmaz SE, Tuglu MM, Uludag MO, et al. Inhibition of endoplasmic reticulum stress protected DOCA-salt hypertension-induced vascular dysfunction. *Vascul Pharmacol.* 2019;113:38-46.
14. Han S, Bal NB, Sadi G, Usanmaz SE, Uludag MO, Demirel-Yılmaz E. The effects of LXR agonist GW3965 on vascular reactivity and inflammation in hypertensive rat aorta. *Life Sci.* 2018;213:287-93.
15. Wang D, Luo Y, Myakala K, Orlicky DJ, Dobrinskikh E, Wang X, et al. Serelaxin improves cardiac and renal function in DOCA-salt hypertensive rats. *Sci Rep.* 2017;7(1):9793.
16. Banek CT, Gauthier MM, Van Helden DA, Fink GD, Osborn JW. Renal inflammation in DOCA-salt hypertension. *Hypertension.* 2019;73(5):1079-86.
17. Arai K, Morikawa Y, Ubukata N, Tsuruoka H, Homma T. CS-3150, a novel nonsteroidal mineralocorticoid receptor antagonist, shows preventive and therapeutic effects on renal injury in deoxycorticosterone acetate/salt-induced hypertensive Rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2016;358(3):548-57.
18. Wei X, Gao P, Pu Y, Li Q, Yang T, Zhang H, et al. Activation of TRPV4 by dietary apigenin antagonizes renal fibrosis in deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt-induced hypertension. *Clin Sci (Lond).* 2017;131(7):567-81.
19. Watanabe Y, Ohata K, Fukanoki A, Fujimoto N, Matsumoto M, Nessa N, Toba H, et al. Antihypertensive and renoprotective effects of dietary flaxseed and its mechanism of action in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Pharmacology.* 2020;105(1-2):54-62.
20. Gonzalez L, Novoa U, Moya J, Gabrielli L, Jalil JE, García L, et al. Angiotensin-(1-9) reduces cardiovascular and renal inflammation in experimental renin-independent hypertension. *Biochem Pharmacol.* 2018;156:357-70.
21. Lee TM, Chen CC, Chang NC. Cardiac sympathetic hyperinnervation in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Clin Sci (Lond).* 2012;123(7):445-5.
22. Yao NA, Niazi ZR, Najmanová I, Kamagaté M, Said A, Chabert P, et al. Preventive beneficial effect of an aqueous extract of *Phyllanthus amarus* Schum. and Thonn. (Euphorbiaceae) on DOCA-salt-induced hypertension, cardiac hypertrophy and dysfunction, and endothelial dysfunction in Rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2020;75(6):573-83.
23. Yang Q, Lu Y, Deng Y, Xu J, Zhang X. Homocysteine level is positively and independently associated with serum creatinine and urea nitrogen levels in old male patients with hypertension. *Sci Rep.* 2020;10(1):18050.
24. Silambarasan T. and Raja B. Diosmin, a bioflavonoid reverses alterations in blood pressure, nitric oxide, lipid peroxides and antioxidant status in DOCA-salt induced hypertensive rats. *Eur J Pharmacol.* 2012;679(1-3):81-9.
25. Liang H, Ma Z, Peng H, He L, Hu Z, Wang Y. CXCL16 Deficiency attenuates renal injury and fibrosis in salt-sensitive hypertension. *Sci Rep.* 2016;6:28715.