

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**KORONER ARTER BYPASS CERRAHİSİNDE  
LOSARTAN' IN İNTERNAL TORASİK ARTER, RADİAL  
ARTER VE SAFEN VEN GREFTLERİNDEKİ NİTRİK OKSİT  
DÜZEYİNE ETKİSİ**

Dr. Cenk İNDELEN

Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı  
Uzmanlık Tezi

2002



T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**KORONER ARTER BYPASS CERRAHİSİNDE  
LOSARTAN' IN İNTERNAL TORASİK ARTER, RADİAL  
ARTER VE SAFEN VEN GREFTLERİNDEKİ NİTRİK OKSİT  
DÜZEYİNE ETKİSİ**

Dr. Cenk İNDELEN  
Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı  
Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı:  
Prof. Dr. K. Turan BERKİ

Anabilim Dalı Başkanı:  
Prof. Dr. H. Mete ALP

2002

ETİK KURUL ONAYI: 26.01.2001, AEK-18, No: 14.

*Uzmanlık eğitimi sürecimde yol göstererek destek olan hocalarım,  
Prof. Dr. H. Mete ALP, Prof. Dr. Kaya SÜZER ve tez danışmanım  
Prof. Dr. K.Turan BERKİ' ye,  
tezimin yapılmasında ki katkılarından dolayı;  
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD. Öğretim Üyesi  
Doç. Dr. Önder ŞİRİKÇİ ile Arş. Gör. Dr. Güler TOPÇU' ya,  
Memorial Hastanesi Erişkin Kalp ve Damar Cerrahisi Bölüm Başkanı  
Prof. Dr. Bingür SÖNMEZ ve ekibine,  
TDV 29 Mayıs Hastanesi Kardiyovasküler Cerrahi Departman Şefi  
Doç. Dr. Mehmet Salih BİLAL ve ekibine,  
Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi Florence Nightingale Hastanesi  
Kardiyovasküler Cerrahi AD. Öğretim Üyesi  
Doç. Dr. Belhhan AKPINAR ve ekibine  
teşekkür ederim.*

*Dr. Cenk İNDELEN*

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2-22
2.1. Nitrik Oksit	3-6
2.2. Renin-Anjiyotensin Sistemi ve Bradikinin	7-15
2.3. Losartan	15-17
2.4. Damar yapısı, ateroskleroz, greft hastalığı ve endotel fonksiyonları	17-21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22-23
4. BULGULAR	24-27
5. TARTIŞMA	28-32
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	33
7. ÖZET	34-35
8. ABSTRACT	36-37
9. KAYNAKLAR	38-47

## SİMGELER VE KISALTMALAR

$\alpha$	: Alfa..
<b>ACE</b>	: Anjiotensin Konverting Enzim.
<b>ADP</b>	: Adenozin difosfat.
<b>Anj</b>	: Anjiotensin.
<b>AMI</b>	: Akut Miyokard Enfarktüsü.
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat.
$\beta$	: Beta.
<b>BK</b>	: Bradikinin.
<b>C</b>	: Karbon.
<b>Ca<sup>++</sup></b>	: İyonize kalsiyum.
<b>CABG</b>	: Koroner Arter Bypass Greft Cerrahisi.
<b>cGMP</b>	: Siklik guanozin monofosfat
<b>COOH<sup>-</sup></b>	: Karboksil.
<b>DAÇ</b>	: Diaçilgliserol.
<b>EDHF</b>	: Endotelyal Hiperpolarizan Faktör.
<b>EDRF</b>	: Endotel Kökenli Gevşetici Faktör.
<b>FAD</b>	: Flavin adenin dinükleotid.
<b>Fe<sup>++/+++</sup></b>	: İyonize demir.
<b>FMN</b>	: Flavin adenin mononükleotid.
$\gamma$	: Gama.
<b>HbO<sub>2</sub></b>	: Oksihemoglobin.
<b>HDL</b>	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein.
<b>IC</b>	: İnhibitör Konsantrasyon.
<b>IDDM</b>	: Tip-1 Diabetes Mellitus.
<b>IF</b>	: İnterferon.
<b>IP</b>	: İnositolfosfat.
<b>İTA</b>	: İnternal Torasik Arter.

<b>LDL</b>	: Orta Yoğunluklu Lipoprotein.
<b>L-NMCA</b>	: N-Nitrometil-L-Arjinin.
<b>M</b>	: Molar.
<b>μ</b>	: Mikro.
<b>MAP</b>	: Mitojenik Aktive Edici Protein.
<b>Mg<sup>++</sup></b>	: Magnezyum.
<b>Na<sup>+</sup></b>	: Sodyum.
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat.
<b>NIDDM</b>	: Tip-2 Diabetes Mellitus.
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit.
<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Nitrit.
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	: Nitrat.
<b>NOS</b>	: Nitrik Oksit Sentaz.
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen.
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	: Peroksinitrit.
<b>Patency</b>	:Graftın açık kalma süresi.
<b>Pg</b>	: Prostaglandin.
<b>RA</b>	: Radial Arter.
<b>RAS</b>	: Renin-Anjiotensin Sistemi.
<b>SH</b>	: Sülfid.
<b>SOD</b>	: Süperoksiddismutaz.
<b>SV</b>	: Safen Ven.
<b>t-PA</b>	: Doku Plazminojen Aktivatörü.
<b>Tx</b>	: Tromboksan.
<b>Zn<sup>+</sup></b>	: Çinko.

# 1. GİRİŞ

CABG operasyonu geçiren hastaların yaşam kalitesi ve süresi, kullanılan greftin *patency* süresine bağlıdır.

İnternal torasik arter, uzun *patency* süresi ile diğer greftlerden üstündür. Günümüzde, koroner cerrahisinde en sık İTA ve SV greftleri kullanılmaktadır. Ancak; artan reoperasyon CABG olguları ve İTA kullanımının kontrendike olduğu olgularda *patency* süresini uzatabilmek için, alternatif arteryel greft arayışı başlamıştır. Gastroepiploik arter, inferior epigastrik arter, ulnar arter ve RA greftleri kullanılmaya başlanmış ve farklı *patency* oranları bulunmuştur. Son yıllarda özellikle RA, alternatif bypass grefti olarak kullanılmaya başlanmıştır. RA ile yapılan bir çok çalışmadan olumlu sonuçlar alınmasına rağmen, vazokonstrüksiyona olan yatkınlığından dolayı, bypass grefti olarak uygunluğu günümüzde de tartışılmaktadır.

Uzun dönem *patency*, cerrahi kalite ile birlikte greftin distal *run-off* ' u ve greftin antiagregasyon, spastisite ve dilatasyon özelliklerine bağlıdır. Endotel fonksiyonu, greftin spastisite ve dilatasyon yeteneğini belirler.

Moleküler biyolojideki gelişmelerle birlikte, endotelyum histopatolojisi ve damar fizyopatolojisi aydınlatılması, *patency* süresi üzerine yeni ajanların etkilerinin araştırılmasını olası kılmıştır.

Bu çalışmada, losartanın bilinen arteryel ve venöz dilatasyon özelliğinin, damar fonksiyonlarında çok önemli bir vazodilatatör mediyatör olan NO üzerinden gerçekleşip gerçekleşmediğine ışık tutarak, losartanın greft *patency* süresine olumlu etkisinin varolup olamayacağı irdelenmiştir.



## **2. GENEL BİLGİLER**

**2.1. NİTRİK OKSİT**

**2.2. RENİN-ANJİYOTENSİN SİSTEMİ VE BRADİKİNİN**

**2.3. LOSARTAN**

**2.4. DAMAR YAPISI, ATEROSKLEROZ,**

**GREFT HASTALIĞI VE ENDOTEL FONKSİYONLARI**

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Nitrik Oksit:

NO, yarı ömrü yaklaşık 30 saniye olan, kararsız yapıda bir gazdır<sup>(1)</sup>. Kardiyovasküler tedavide ilk defa 1867 yılında, Sir Thomas Lauder Brunton tarafından bir angina pectoris olgusuna kullanılmıştır<sup>(2,3)</sup>. Noradrenalin ile oluşturulan vazokonstriksiyonun asetilkolin ile düzeldiği; ancak endotel tabakasının çıkarılması ile bu etkinin gerçekleşmediği saptanmıştır<sup>(4)</sup>. Bu çalışmada; siklooksijenaz inhibitörü kullanılarak, asetilkolin bağımlı bu gevşemenin PGI<sub>2</sub>' ye bağlı olmadığı gösterilmiş ve vazodilatasyonu sağlayan bu nonprostanoid molekül EDRF (Endotel Kökenli Gevşetici Faktör) olarak tanımlanmıştır. Son yıllarda, EDRF olarak bilinen molekülün aslında NO olduğu in vivo ve in vitro olarak saptanmıştır<sup>(4,5,6)</sup>.

NO, elektriksel olarak nötral yapıdadır. Vasküler dokuda, endotel-endotel, endotel-düz kas hücreleri arasında direkt hücre kontağı ile lokal otokrin/parakrin mediyatör olarak rol alır. NO' in 2 önemli biyolojik rolü vardır: Vazodilatasyon ve platelet antiagregasyonu.

NO, L-argininden Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimiyle sentezlenir. Farklı tiplerde NOS enzimleri vardır:

- NOS-I yada eNOS, endotelde bulunan, bazal NO sentezinde rol oynayan sitozolik bir enzimdir<sup>(7)</sup>.
- NOS-II, makrofaj, lökosit ile damar düz kas hücrelerinde bulunan ve sitokinler ile uyarılarak hücre sitotoksitesini artıran enzimdir<sup>(8)</sup>. Bu enzim septik şok sendromunda hipotansiyondan sorumlu tutulmaktadır<sup>(7)</sup>.
- NOS-III, sinir hücrelerinde vardır, kalsiyum ve kalmoduline ihtiyaç duyar. Asetil kolin ve bradikinin tarafından uyarılır. Uzun dönem hafızadan sorumludur<sup>(9)</sup>.
- **İndüklenebilen NOS (i-NOS)** vasküler düz kas hücrelerinde, makrofaj, karaciğer kupfer hücreleri ve lökositlerde bulunmaktadır. IF- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , lipopolisakkaritler tarafından uyarılırken, kalmodulin/Ca<sup>++</sup> ile uyarılmaz<sup>(10)</sup>. NO

sentezi, uyarıdan 4-6 saat sonra artmaya başlar ve 24. saatte maksimum olur. NOS için  $Ca^{++}$ , Kalmodulin, Tetrahidrobiopterin, NADPH, FAD, FMN kofaktörlerdir.



Vasküler dokuda NO düzeyini asetilkolin, bradikinin, mekanik gerilme (*shear stress*),  $Ca^{++}$ /kalmodulin, Anj-II, endotel hasarı, damar pulsatil akımının bozulması, histamin, trombin, ATP, ADP artırmaktadır<sup>(11,12,13)</sup>. Vasküler dokuda NO oluşumu, eNOS kofaktörü olan  $Ca^{++}$ /kalmodulin kompleksinin konsantrasyon artışı ile başlar. eNOS, cAMP bağımlıdır ve Protein Kinaz C fosforilasyonu NOS katalitik aktivitesini azaltmaktadır<sup>(14)</sup>. NO, endotel ve düz kas hücrelerinde Guanilat Siklazı aktive ederek cGMP sentezini artırır. cGMP, Protein Kinaz aktivasyonu ile membran bağımlı  $Ca^{++}$ /Mg<sup>++</sup> ATPaz ile endoplazmik retikulumda  $Ca^{++}$  ATPaz enzimlerini aktif hale getirir. Bu enzimler tarafından hücre içi sitozolik  $Ca^{++}$  miktarı azaltılarak relaksasyon sağlanır<sup>(15,16)</sup>. Endotelde sentezlene NO difüzyon ile düz kas hücrelerine ulaşır.

İntraselüler  $Ca^{++}$  artışı, NO sentezini artırmaktadır, hücre içi  $Ca^{++}$  konsantrasyonu 0.1-1  $\mu\text{mol}$  olduğunda NOS uyarılır<sup>(17)</sup>. Ekstraselüler  $Ca^{++}$  azalması, muskarinik agonistlerin yol açtığı endotel bağımlı relaksasyonu azaltır.  $Na^{+}$  nitroprussid gibi endotel bağımsız vazodilatatörler ile böyle bir etki olmaz<sup>(18)</sup>. İntraselüler alkalizasyon, özellikle bradikinine bağlı uyarılan NOS aktivitesini azaltır. Hipoksi, asetilkolin ile uyarılan relaksasyonu artırır; ancak, endotel bağımsız relaksasyonda etkisizdir<sup>(19)</sup>. NOS, süperoksitlerden de NO sentezi yapabilir, özellikle iskemi/reperfüzyon modellerinde, bu etkinliğin fizyopatolojide önemli olduğu saptanmıştır<sup>(20)</sup>. Bu etki, ortamda arginin miktarı az ise daha da artmaktadır. Arterlerde venlere göre bazal ve uyarılmış NO düzeyleri daha fazladır<sup>(21)</sup>. Endotelyumun çıkarılması, serotonin ve noradrenalin ile oluşan arteriyel vazokonstriksiyonun şiddetini artırmaktadır; ancak, safen vende vazokonstriksiyonun şiddetinde bir artış olmaz<sup>(22)</sup>. Endotelial bağımlı relaksasyon ve spazmın arter ile venlerdeki bu farklılığı; düz kas dokusundan ziyade endotelyumdan kaynaklanmaktadır. Venler, NO ve NO derivelerine

arterlere göre daha güçlü bir relaksasyon yanıtı gösterirler<sup>(23)</sup>. Venlerde asetil kolin ile oluşan relaksasyon, endotelyumun çıkarılması ile azalır; ancak, nitrovazodilatatörlere olan relaksasyon yanıtı etkilenmez.

Hem in vivo hem de in vitro olarak NO' in trombosit adezyon ve agregasyonunu azalttığı saptanmıştır<sup>(24,25,26)</sup>. PGI<sub>2</sub>, NO' in bu etkisine sinerjisi göstermektedir<sup>(26)</sup>. NO' in vazodilatasyondan sonraki en önemli fizyolojik etkisi trombosit antiagregasyonudur.

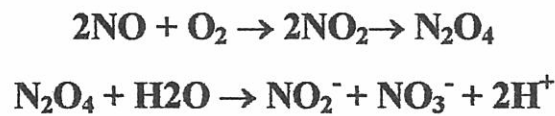
NO, endotel ve düz kas hücrelerinde mitozu inhibe eder<sup>(27,28)</sup>. Aortik dokuda, *platelet derived growth factor*, *basic-fibroblast growth factor*, *epidermal growth factor* lerin tümünün etkinliği NO ile azalır<sup>(28)</sup>. cGMP üzerinden gerçekleşen bu etkiyi bradikinin ve asetilkolin arttırmaktadır.

Hipertansiyon ve özellikle ateroskleroz patogeneğinde önemli olan, medial düz kas hücrelerinin intimaya migrasyonu ve proliferasyonu ile platelet ve makrofajların aterom plağına migrasyonu NO ile azalmaktadır<sup>(29)</sup>. Anj-II ise tam tersi etki gösterir<sup>(30)</sup>.

Aterosklerotik domuz koroner arterlerinde, bradikinine bağlı endotel vazodilatasyon azalmıştır; ancak nitrovazodilatatörlere yanıt değişmemiştir<sup>(31,32)</sup>. Tartışmalı olmakla birlikte aterosklerotik damarlarda NO düzeylerinin azaldığı kabul edilmektedir<sup>(33)</sup>. Sağlıklı damarların aksine, aterosklerotik damarlarda artan süperoksid anyonlara karşı reaktif olarak artan SOD, NO molekülünün inaktivasyonunu da arttırmaktadır<sup>(34)</sup>.

Epikardiyal koroner arterlerde NO sentezi *L-NMCA* ile inhibe edildiğinde, platelet agregasyonu, nötrofil adezyonu ve vazokonstrüksiyonda artış olmaktadır. Nötrofil adezyonu endotel hasarına yol açmaktadır<sup>(35)</sup>.

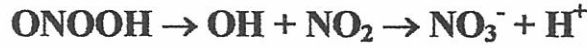
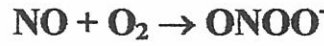
Oksijenli ortamlarda NO yarı ömrü yaklaşık 30 saniyedir. Bu nedenle ölçülmesi oldukça zordur. Sentezlendikten hemen sonra enzimden ayrılan NO, sıvı ortamda Nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, Azotdioksit) ve Nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) moleküllerine ayrılır. Bu iki molekül, in vitro ve in vivo çalışmalarda indirekt olarak NO düzeyini belirlemek için kullanılmaktadır<sup>(36,37,38,39)</sup>.



Çeşitli okside edici ajanlar NO' in hızla oksidatif inaktivasyonuna yol açar. Alyuvarlardaki oksihemoglobin (HbO<sub>2</sub>), plazmaya salınan NO inaktivasyonda önemlidir.



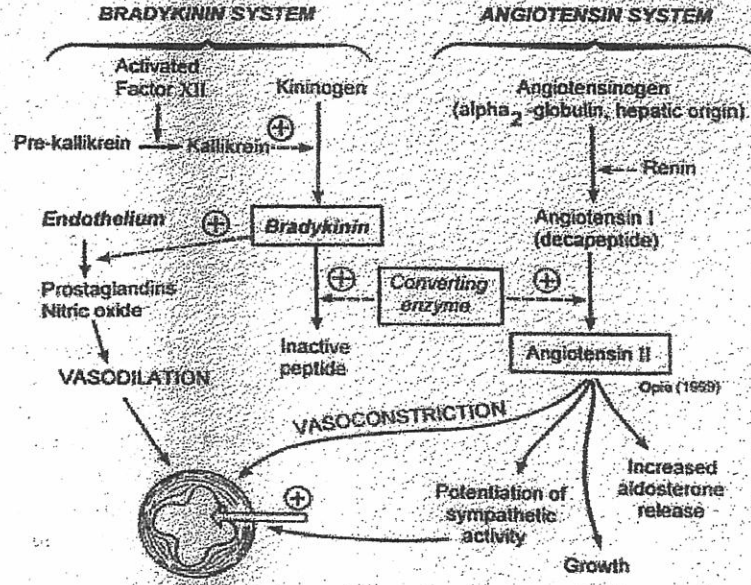
Patofizyolojik mekanizmalarda NO' in peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) süperoksit anyonuna yıkımı hücre hasarını arttırmaktadır<sup>(35)</sup>.



NO' in patolojik etkileri de vardır. Hücre içinde demir ve diğer metal içeren proteinlerin yapı ve fonksiyonlarını değiştirir. Böylece mitokondriyal hücre solunumunu ve enerji metabolizmasını bozar. Makrofajlar, hedef tümör hücrelerine NO yıkım ürünleri ile sitotoksisite gösterir<sup>(35)</sup>. Septik şok sendromunda hipotansiyondan NO sorumludur. Kardiyopulmoner bypass sırasında ve yüksek konsantrasyonlu O<sub>2</sub> bulunan kardiyopleji solüsyonları verilmesi ile serbest oksijen radikalleri ve NO düzeyi artmaktadır. Özellikle hipoksik bir dönemden sonra bu artış hızlanır. Hipoksi sonrası miyokardiyal reoksijenizasyon ile artan serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyon ürünleri ve NO ventriküler kas hasarı ile oluşan kalp yetmezliğinde önemli rol oynar<sup>(35)</sup>.

Organik nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) esterleri *isosorbitdinitrat* ve *nitrogliserin* ile organik nitrit (NO<sub>2</sub>) esterleri *isoamilnitrit* ve inorganik bileşik *Na<sup>+</sup> Nitroprussit*, klinik kullanımda nitrovazodilatatör sıklıkla kullanılmaktadır. Nitrogliserin damar düz kaslarında cGMP' yi uyarır, endojen NO gibi vazodilatasyon sağlar. Nitrogliserinin platelet agregasyonunu azalttığı kesin olarak saptanamamıştır; ancak, Na<sup>+</sup> nitroprussit vazodilatasyon ile birlikte platelet antiagregasyonu da sağlar<sup>(24,40,35)</sup>. Gaz formunda NO, pulmoner hipertansif kriz atağı tedavisinde endikedir.

## 2.2. Renin-Anjiotensin Sistemi ve Bradikinin:



Şekil-1: RAS ve Bradikinin sistemi<sup>(41)</sup>.

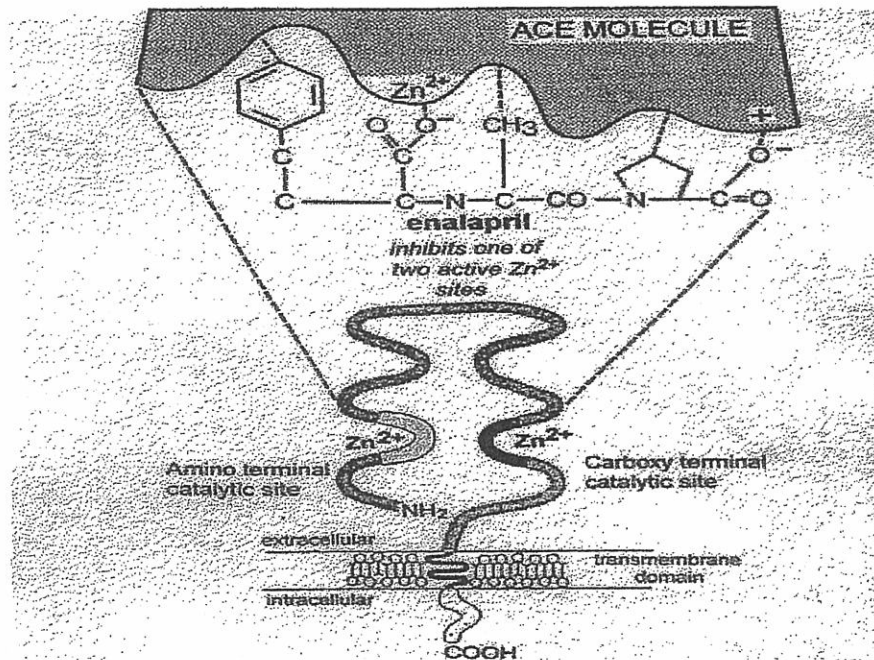
RAS, homeostazın sağlanmasında kan basıncı, sıvı-elektrolit dengesi ve etkileşime girdiği hormonların biyolojik etkileriyle önemli bir fizyolojik yol oynar. Bununla birlikte RAS, Anj-II' nin aşırı hemodinamik etkileri ile kardiyak ve vasküler hipertrofi-remodeling, ateroskleroz, AMI, hipertansiyon ve glomerular hasara neden olan bir çok patolojik tabloda aktif rol almaktadır<sup>(41)</sup>.

Anjiotensinojen, Renin, Anj-I, ACE, Anj-II, AT-1 ve AT-2 reseptörleri RAS' nin temel yapılarıdır. RAS etkilerinin hemen hemen tümünden, bilinen en güçlü vazokonstrüktör molekül olan Anj-II sorumludur. Bununla beraber, sistemik RAS yanında, fizyolojik ve patolojik süreçler de önemli rol oynayan bir lokal ( doku ) RAS vardır.

Anjiotensinojen ( renin substrat ), glikoprotein özelliğindedir. Karaciğerde perisantral bölgedeki hepatositlerden sentezlenir<sup>(42)</sup>. Ancak yapılan çalışmalarda beyin, spinal kord, aorta ( düz kas ve adventisya ), mezenterde de sentezlendiği gösterilmiştir.

*Anj-I*, glikoproteaz özelliğindeki *Renin* enzimi etkisi ile *Anjiotensinojen*' den oluşur. Bu basamak *Anj-I* için hız kısıtlayıcıdır. Renin, böbrek afferent arteriollerinin jukstaglomerular hücrelerinde bulunur<sup>(41,43)</sup>. Renin sentezi; iskemi veya renal kan akımı azalması, Na<sup>+</sup> kaybı, β<sub>1</sub>-adrenerjik uyarı, arteriyel basınç azalışı ile artar. Sentez, jukstaglomerular hücrelerinin golgi aparatı ve endoplazmik retikulumundan *prorenin* olarak başlar, yeniden golgi aparatında renine dönüşür<sup>(44)</sup>. Prorenin aktive edici enzim *trypsinlike* aktivite gösterir ve böbrek endoteli ile nötrofillerde bulunur<sup>(45)</sup>. Renin regülasyonu dokulara göre farklılık göstermektedir: Na<sup>+</sup> kaybı veya β-adrenerjik uyarı ile böbrek, adrenal bez ve kalpte renin sentezi artarken, submandibular ve genital bezlerde bu olmaz<sup>(46)</sup>. *Anj-II*, hem direkt etki hem de indirekt olarak serum aldosteron ve Na<sup>+</sup> seviyesini artırarak, renin sentezini inhibe eder.

*ACE*, *Anj-I*' den *Anj-II* dönüşümünü sağlar. Spesifik değildir. **Kininaz-II** olarak Bradikinin' i inaktive eder. Dipeptidil karboksipeptidaz yapısındadır ve Zn<sup>++</sup> içerdiği için metalloproteazdır<sup>(41)</sup>. Akciğerlerde sentezlenir. Enzimin düşük affiniteli aktif bölgesi ve Zn<sup>++</sup> atomununun pozitif yüklü iyonları, enzimin diğer aktif bölgelerindeki –COOH<sup>-</sup> gruplarıyla etkileşirler. –COOH<sup>-</sup> grupları yerine –SH eklenmesi ile *ACE* inhibitörleri oluşmaktadır<sup>(47,48)</sup>.



Şekil-2: *ACE* molekülü ile *ACE* inhibitörü arasındaki ilişki<sup>(41)</sup>.

*Anj-II*, bir lineer en vazokonstrüktör ajandır<sup>(43)</sup>. Anj-II oktapeptid yapısındadır ve başlıca akciğerlerde ACE aktivasyonu ile dekapeptid yapısındaki Anj-I' den oluşur. En önemli etkisi vazokonstriksiyon ile arteriyel basıncı arttırarak hemodinaminin devamını sağlamaktır. Doğuşundan *Anjiotensinaz* adı altında toplanan enzimler kompleksi ile uzaklaştırılır<sup>(49)</sup>. Anj-II'nin fizyolojik ve patolojik etkileri *AT-1* ve *AT-2* reseptörleri ile gerçekleşmektedir.

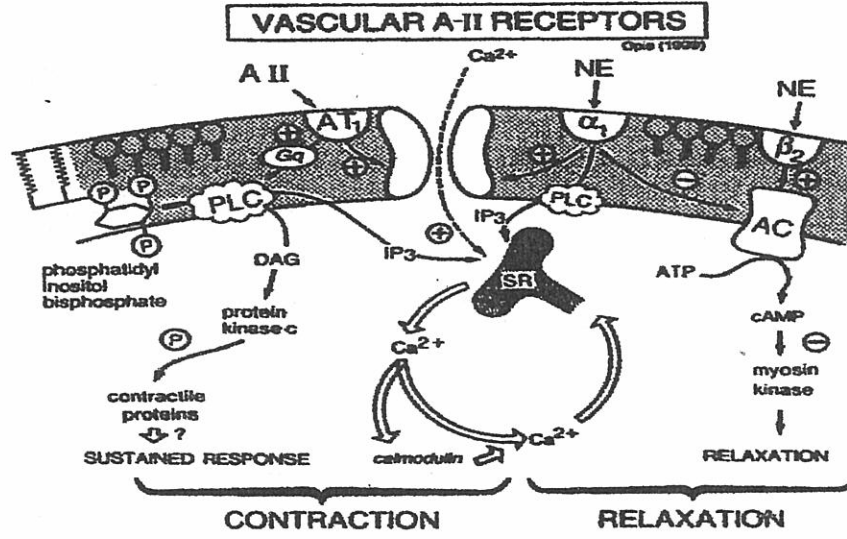
Tablo-1: *AT-1* ve *AT-2* reseptörlerinin dağılımı.

<b>AT<sub>1</sub> (TİP 1)</b>	<b>AT<sub>2</sub> (TİP 2)</b>
Erişkin damarları	Fötal beyin
Böbrek	Erişkin beyin
Sürrenal	Sürrenal
Kalp	Over
Karaciğer	Uterus
Adrenerjik sinir uçları	
Hipotalamus	

*AT-1* reseptörleri, vazokonstriksiyon, kalp kontraktilitesi, aldosteron salınımı, su ve tuz tutulumu, renal kan akımının artışı, glomerül filtrasyon hızı artışı, anjiotensinojen salınımı, kardiyak ve vasküler hipertrofidan ( mitoz ve migrasyon artışı ) sorumludur. *AT-1<sub>a</sub>* ve *AT-1<sub>b</sub>* subgrupları arasında fizyolojik ve patolojik etkiler açısından belirlenmiş bir fark yoktur. *AT-2* reseptörlerinin etkileri ise tam olarak bilinmemektedir<sup>(50,51)</sup>. Bununla beraber, *AT-2* reseptör uyarısının *AT-1* ile gerçekleşen patolojik süreçleri azalttığı ileri sürülmektedir<sup>(52)</sup>. *AT-2* reseptörlerinin fetal hayatta daha etkin olduğu, hücre *diferansiyonu* ile *rejenerasyonunda* rol aldığı düşünülmektedir. *AT-3* ve *AT-4* reseptör fonksiyonları tam olarak aydınlatılamamıştır<sup>(53)</sup>. *AT-1* ve *AT-2* reseptör subtiplerinin başlattığı sinyal dizisi de farklıdır. *AT-1* uyarılması *Fosfolipaz C*, *Fosfolipaz D* aktivasyonu ve *Adenilat Siklaz* inhibisyonuna yol açarken; daha sonra hücre içi  $Ca^{++}$  artışı olur ve *Protein Kinaz C* aktive olur. *AT-2* reseptörleri Guanilat Siklaz inhibisyonu sağlar; ancak, sinyalizasyon kaskadı tam olarak çözülememiştir<sup>(41,43)</sup>.



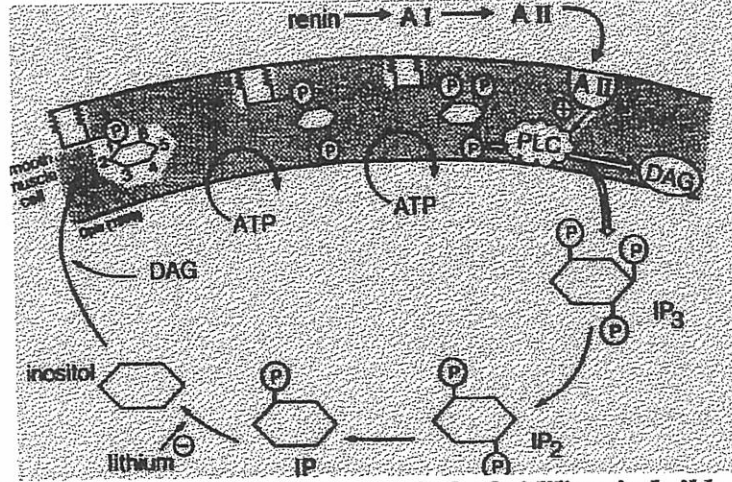
*Losartan*, AT-1 reseptör antagonistidir. *PD 123177* ve *PD 123319* ise AT-2 reseptör antagonistleridir.



Şekil-3: Damarda AT-1 reseptörünün uyarılmasının etkileri<sup>(41)</sup>.

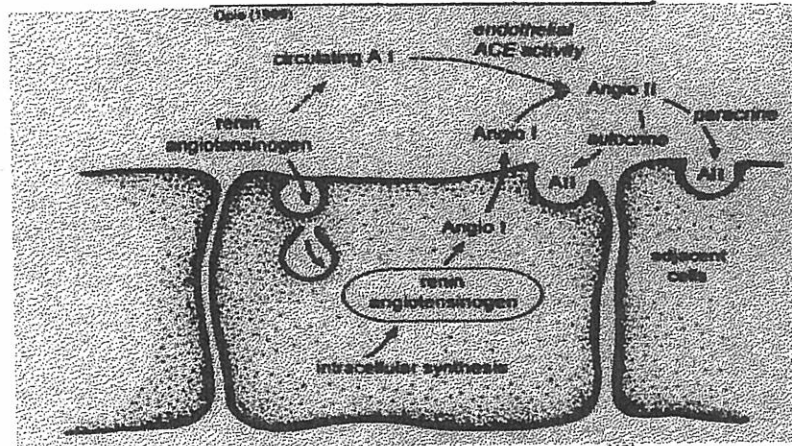
AT-1 reseptörlerinin hücre membranında ki uyarısı, *G-Proteinler* ( Guanin nükleotid bağlayan düzenleyici proteinler ) ile *stoplazmaya* iletilir. *G-protein-g* membrana bağlı *Fosfolipaz C-β'* yi aktive eder. Bu enzim *Fosfotidilinositol 4,5 bifosfatı* hidrolize ederek *İnositol 1,4,5- Trifofat (IP<sub>3</sub>)* ve *diaçil gliserol (DAÇ)* ortaya çıkarır. IP<sub>3</sub> sarkoplazmik retikulumdaki kendi reseptörlerine bağlanarak Ca<sup>++</sup> un salınımıyla hücre içi Ca<sup>++</sup> miktarını artırır. Ayrıca membran Ca<sup>++</sup> kanallarını da açarak hücre içine Ca<sup>++</sup> girişini artırır ve Ca<sup>++</sup>/Kalmodulin kompleksi oluşumunu artırır. DAÇ, Protein Kinaz C aktivasyonu ile kontraktıl protein sentez ve fonksiyonunu artırır. Böylece Protein Kinazlar aktive olur. Vasküler dokuda IP<sub>3</sub> oluşumu ve Ca<sup>++</sup> kanallarının açılması sonucu vazokonstrüksiyon gerçekleşir. Ca<sup>++</sup> artışı, aldosteron sentezini de artırır. Miyokard kontraktilitesi içinde benzer bir mekanizmanın rol oynadığı sanılmaktadır<sup>(41)</sup>. AT-1 uyarısı, terminal nöronlardan noradrenalin salınımını artırarak α<sub>1</sub>-adrenerjik uyarı ile de vazokonstrüksiyona yardımcı olur; terminal nörondaki α<sub>1</sub>-adrenerjik uyarı *Endotelin-1* salınımını da artırmaktadır<sup>(41)</sup>. Anj-II ve Endotelin birlikte, AT-1 ve ET-1

reseptörleri üzerinden anjiogenesis, *remodeling* ve kardiyak hipertrofiyi tetiklemektedirler<sup>(41)</sup>.



Şekil-4: Damar düz kas hücresinde fosfatidilinositol siklusu<sup>(41)</sup>.

Fosfatidilinositol molekülünde *stearik asit* ve *araşidonik asit* ağırlıklı iki yağ asidi zinciri vardır. Fosfolipaz C aktivasyonu ile bir kere IP<sub>3</sub> oluştuğu zaman, *fosfodiesteraz aktivasyonu* ile kolaylıkla *inositol bifosfat (IP<sub>2</sub>)* ve *inositol mono (IP)* fosfat dönüşümü sağlanmaktadır. DAG, sıklusa girer ve Protein Kinaz aktivasyonu ile tekrar IP<sub>3</sub> oluşmaktadır. Fosfat siklusu hücre Ca<sup>++</sup> regülasyonu ve sekresyonunu ile beraber farklı hücrelerde farklı fizyolojik/fizyopatolojik mekanizmaları etkiler. Vasküler dokuda fibroblastlarda mitojenik potansiyeli artırır. α<sub>1</sub>-adrenerjik uyarı ile de mitojenik aktivite uyarılmaktadır<sup>(41)</sup>.



Şekil-5: Lokal (Doku) RAS<sup>(41)</sup>.

Yapılan çalışmalar vasküler yatak, kalp, beyin, böbrekler, genital salgı bezleri ve koroner arterlerde Anj-II' nin fizyolojik etkilerinden lokal RAS' in de belirgin rol aldığını göstermiştir<sup>(54)</sup>. Lokal RAS, ACE inhibitörü ajanlardan etkilenmez, böylece klinik olarak ACE inhibitörü ajanların etkinliği azalır. Lokal RAS *ekstresek ve intrinsek* olarak ayrılmaktadır. *Ekstresek RAS*, damar duvarı yüzeyinde hepatik orijinli Anjiotensinojen'i Anj-I' e çevirir; aynı zamanda lokal sentezlenen ve dolaşımdan alınan Anj-I' de Anj-II' ye çevrilir. *Intrinsek RAS* kaskadının temel fizyolojik/fizyopatolojik etkileri ve önemi tam olarak saptanamamıştır. Bununla beraber, intrinsek RAS damar duvarında bulunan renin, anjiotensin, ACE, A-I, Anj-II, Anj-III mRNA'ları ve bu genlerin fonksiyonları ile oluşmaktadır. Lokal RAS dokularda *Nonrenin Proteazlar* ile renin gerekmeden Anj-I' den Anj-II dönüşümünü sağlar. *Katepsin-G* ile *Tonin* Anjiotensinojen'i Anj-II' ye direkt çevirir. *Katepsin-G*, Anj-II üretiminde duyarlı bir enzim olan *Kimostatin* ve *Kalp Kimaz'* in ACE gereksinimi olmadan Anj-I' den Anj-II dönüşümüne de yardımcı olur<sup>(54)</sup>.

Lokal RAS; uzun dönemde damarlarda aterojenik dejenerasyonda, kısa dönemde ise vazokonstrüksiyonda rol oynar<sup>(55)</sup>. Lokal RAS, parakrin yada otokrin aktivasyon ile lokal Anj-II oluşumunu arttırmaktadır. Lokal sentezlenen Anj-II' de AT-1 reseptörleri üzerinden etki göstermektedir. ACE inhibitörlerinin özellikle beyin ve kalp dokusundaki penetrasyonlarının yeterli olamaması, bu dokularda ki AT-1 reseptörlerinin bloke edilmesinin önemini arttırmaktadır. Kardiyak hipertrofidan lokal RAS, sistemik RAS' den daha fazla sorumludur.

Sistemik RAS kardiyovasküler sistemde; akut kalp yetmezliği, akut hipertansif atak gibi kısa süreli etkilerden sorumludur. Sistemik RAS, kardiyak homeostaz ve kan basıncını düzenler. Yapılan çalışmalarda kalp yetmezliğinin kompensatuvar fazında, lokal RAS etkisi devam ederken sistemik RAS etkisinin giderek azaldığı gösterilmiştir<sup>(56)</sup>. Köpek koroner arter ligasyonu sonrası kalp dokusunda Anj-II düzeyi artmaktadır; bu artış, kalp miyosit membranlarında ki *Serin ve Sistein Proteaz'* larının Anj-II sentezi olmaktadır<sup>(57,58,59)</sup>. İnsanlarda, Serin proteaz inhibitörü *Nafamostat*; periferik arter hastalarında ki iskemiye dolayısıyla kladikasyonu anlamlı olarak azaltmaktadır<sup>(60)</sup>.

RAS içinde, *Anjiotensin 1-7*, *Anjiotensin III (Anj-2 8)* ve *Anjiotensin IV (Anj-3 8)* diğer anjiotensin peptidlerdir. Anj-I' den *Nötral Endopeptidaz* ile Anjiotensin 1-7 sentezlenir, bu peptidin seviyesi ACE inhibitörleri ve losartan ile artmaktadır<sup>(61,62)</sup>. Anj-1-7' nin damarlarda bradikinin uyarısı ile vazodilatasyon sağladığı<sup>(63)</sup>, ayrıca in vitro şartlarda myokardiyal dokuda iskemi/ reperfüzyon injürisini azalttığı saptanmıştır<sup>(64)</sup>. Anj-IV, fibrinolitik sistemi uyarmaktadır<sup>(65)</sup>.

ACE, Şekil-1' de de görüldüğü gibi, *Kininaz-I* ve *Kininaz-II aktivitesi* ile *Bradikinin* yıkımını sağlar. *Kininojenden Kallikrein* enzimi ile bradikinin oluşmaktadır. Bradikinin, damar endoteli yüzeyindeki *BK<sub>2</sub> reseptörleri* etkisi ile NO, *PgI<sub>2</sub>* sentezini artırır, bu etki kalp koruyucudur<sup>(66)</sup>. Bradikinin, endotelden salgılanır. Endotel hasarı ve intravasküler volüm artışı ile sentezi artar<sup>(67)</sup>. Hipotetik olarak egzersiz sırasında kardiyak outputu destekler. Bradikinin, iki yolla vazodilatasyon sağlar: İlk yol, NO düzeyini arttırmak<sup>(68)</sup>, ikinci yol araşidonik asit dönüşümünü artırarak *PgI<sub>2</sub>* ve *PgE<sub>2</sub>* düzeylerini arttırmaktır<sup>(69)</sup>. İskemik köpek modelinde, akut koroner oklüzyonda bradikinin seviyesi koroner venlerde artmıştır<sup>(70)</sup>.

Serum Bradikinin düzeyini AT-1 antagonistleri etkilemezken, ACE inhibitörleri ile artar<sup>(41)</sup>. ACE inhibitörleri iskemik reperfüzyon hasarında *PgI<sub>2</sub>* ve NO aracılığı ile koruma sağlar, bu etki AT-1 blokajı ile de artmaktadır<sup>(71,72,73)</sup>. *BK<sub>2</sub> reseptör antagonisti İcatibant* ve AT-2 reseptör antagonisti *PD 123319* ile yapılan bir in vivo çalışmada; Bradikinin' in vasküler NO sentezini artırırken *BK<sub>2</sub>/AT-2* reseptör uyarılarına birlikte gereksinim gösterdiği saptanmıştır<sup>(74)</sup>.

AT-1 reseptör antagonistlerinin, safen ven hücre kültürlerinde neointimal proliferasyonu inhibe ettiği saptanmıştır<sup>(75)</sup>. İn vivo çalışmalar bu etkinin; neointimal oluşumun başlangıcında akut intimal yanıtın azalması ve uzun dönemde media konektif doku artışı ile düz kas proliferasyonunun yavaşlaması şeklinde olduğunu göstermiştir<sup>(76)</sup>. İntimal hiperplazinin azalması; verapamil ve kaptoprile göre anlamlı olarak daha fazladır. Balon anjioplasti sonrası neointimal proliferasyonun silazapril ile ilk 6 gün % 60 azaldığı; AT-1 antagonistlerinin de benzer etkileri olduğu gösterilmiştir<sup>(76,77)</sup>. Sistemik verilen AT-2 reseptör antagonistlerinin intimal hiperplaziyi etkilemediği; ancak, lokal verildiğinde intimal hiperplaziyi azalttığı saptanmıştır<sup>(78)</sup>. Bununla beraber,

uzun dönem sonuçlarına göre: ACE inhibitörleri anjioplasti sonrası restenozu azaltmamaktadır<sup>(79)</sup>. AT-1 reseptör antagonistlerinin düz kas migrasyon ve proliferasyonunu birlikte inhibe ederken, ACE inhibitörleri belirgin olarak sadece migrasyonu inhibe etmektedir<sup>(80)</sup>. AT-1 reseptörleri, *MAP Kinaz* (Mitogen Activated Protein Kinase) uyarılması ile özellikle C-fos ve C-jun protoonkojenik genlerin aktivasyonu ile hücre çoğalmasını sağlar.

Akut MI sonrası *remodeling* mekanizmasında, diskinetik yada akinetik bölge dışında ki ventriküler kas dokusunun hiperplazisi, ACE inhibitörleri ve reseptör antagonizması ile azaltılabilmektedir<sup>(81)</sup>. Ancak; akut bir stres altında, ACE inhibitörleri her zaman Anj-II düzeyini vücutta azaltmamaktadır<sup>(54)</sup>.

Anj-II, NO etkilerine in vivo olarak antagonizm göstermekle birlikte, olası iki mekanizma ile NO sentezini uyarır<sup>(82)</sup>. Birinci mekanizma: Hücre içi  $Ca^{++}$  konsantrasyonunu artırarak NOS uyarılmasıdır. İkinci mekanizma: NOS enziminin kendi sentezinin uyarılmasıdır. Anj-II' nin akut verilmesi ile NOS-III sentezi artış gösterilememiş; ancak, kronik Anj-II infüzyonu NOS-III proteinlerini artırmış ve NO konsantrasyonunun yükselmesini sağlamıştır<sup>(82)</sup>. Anj-II' nin bu etkisi doz bağımlıdır. Anj-II' nin NO konsantrasyonunu artırması için in vivo ortamda damar duvarına "*shear stress*" etkisi olmak zorundadır. Ayrıca; ilginç olarak Anj-II' nin hücre içi  $Ca^{++}$  miktarını arttırmasının AT-2 reseptörleri üzerinden olabileceğide olasıdır<sup>(82)</sup>. Bununla beraber, Anj-II; AT-1 reseptörleri yoluyla, hücre içinde  $Ca^{++}$  miktarını arttırarak NO düzeyini yükseltmesi beklenirken, tam tersi olarak, süperoksit oluşumunu uyararak, NO yıkımını belirgin olarak arttırmaktadır. Dolayısıyla teorik bilgilerin aksine AT-1 reseptör blokajı invivo olarak NO yıkımını azaltarak kan/doku NO düzeyini yükseltebilmektedir<sup>(83)</sup>. Bu iki farklı görüş, Anj-II ve losartan ile NO arasındaki etkileşimin günümüzde de tam olarak anlaşılmasından kaynaklanmaktadır.

SVG' lerinde ACE aktivasyonu İTA ve RA greftlerine göre daha fazladır<sup>(84)</sup>. SVG yaşlandıkça ACE aktivasyonunda artmaktadır. İn vitro losartan kullanımı; konsantrasyon bağımlı olarak Anj-II bulunan ortamlarda greftlerde vazokonstrüksiyonu azaltmaktadır. İn vivo olarak bu etkinin Anj-II fonksiyonlarını endotelium ve düz

kaslarda inhibe ederek ortaya çıkardığı bilinmektedir. İlginç olarak, AT-2 reseptörlerinin in vitro uyarılması, NO üretimini artırmaktadır<sup>(84)</sup>.

### 2.3. Losartan:

RAS' ini reseptör seviyesinde inhibe etmeyi hedefleyen çalışmalar sonucunda, 1971 yılında ilk Anj-II reseptör antagonisti *Saralazin* bulundu. Saralazin peptid yapıdadır ve reseptörlerde parsiyel etki gösterir; bu nedenle klinik kullanımda çok dar bir endikasyon alanı bulmuştur.

1981 yılında ilk nonpeptid Anj-II reseptör antagonisti *Losartan* bulundu ve yaygın olarak klinik kullanıma girdi<sup>(85,86,87)</sup>. Losartan, selektif olarak AT-1 reseptörlerini konsantrasyon bağımlı olarak kompetitif yol ile antagonize eder.

Losartan, *2-butil-kloro-[p-(o-1H-tetrazol-5-bifenil)benzil]imidazol-5-metanol monopotasyum* tuzudur. Kimyasal formülü;  $C_{22}H_{22}ClKN_6O$  şeklindedir. Molekül ağırlığı 461.01' dir<sup>(85,86)</sup>.

Klinik endikasyonu, hipertansiyon tedavisidir. FDA onayı vardır.

Oral olarak 25-200 mg/gün alınır. Gastrointestinal biyoyararlanımı %33' dür. Yemeklerle birlikte alındığında emilimi azalır. Sitokrom p 450 enzim sistemi ile ilk geçiş metabolizmasına uğrar. %15 kadarı karboksilasyon ile E-3174' e dönüşür. Losartan plazma peak konsantrasyonuna yani  $C_{max}$  değerine 1 saate, E-3174 3-4 saatte ulaşır<sup>(86)</sup>. Karaciğerde karboksilasyon ile aktif metaboliti olan E-3174, AT-1 reseptörlerine losartandan 10 kat daha fazla afinite gösterir<sup>(86)</sup>. Losartan  $IC_{50}$  değeri  $1-2 \times 10^{-8}M$ , E-3174 için  $1.1 \times 10^{-9}M$  dir.

Losartanın yarı ömrü  $t/2_{\beta} = 2.1$  saat, E-3174  $t/2_{\beta} = 6.4$  saatdir. Losartan emiliminin 10. saatinde plazmada tamamen metabolize olmuştur. Losartanın plazma klirensi 600 ml/dk, E-3174' ün ise 50 ml/dk' dir. E-3174 ise losartan ve metabolitlerinin %98' i plazma proteinlerine (özellikle albumine) bağlanır; dağılım hacmi 34 lt' dir. Farmakokinetiği böbrek disfonksiyonundan etkilenmez; ancak karaciğer disfonksiyonunda doz azaltılmalıdır. Oral alımından sonra % 4'ü değişmeden, % 6' sı

aktif metabolit olarak idrarla atılır. <sup>14</sup>C radyoaktif çalışmalarda, oral alımından sonra %35 idrarla, % 58 feçesle atıldığı saptanmıştır.

Losartan kan-beyin bariyerini geçer, plasentadan ise geçemez; ancak, gebelerde güvenilirliği yoktur.

3700 olguda yapılan çalışmada antihipertansif etkinliği ispatlanmıştır<sup>(86)</sup>. Antihipertansif etkinlikte yaşlı, genç, erkek, kadın hastalar arasında fark yoktur. Antihipertansif etkisi ACE inhibitörlerinden azdır. Antihipertansif etki 8-12. haftalarda başlar. Tedavi başlangıcında ilk doz senkopuna rastlanılmamıştır.

Uzun dönem tedavide plazma renin aktivitesi ve Anj-II konsantrasyonları artmaktadır. Ancak bazı olgularda tedavinin 4. haftasında renin aktivitesinin azaldığıda saptanmıştır. Bradikinin düzeyi losartandan etkilenmez. Plazma aldosteron düzeyi düşer, 6. haftada % 74 oranında azalır<sup>(86)</sup>.

Primer antihipertansif etkisi AT-1 antagonizması ile olmakla beraber; Pgl<sub>2</sub> ile gelişen vazodilatasyon losartan ile artmaktadır<sup>(85)</sup>.

Metabolik olarak total kolesterol, trigliserid, LDL, HDL seviyelerine etkisi yoktur, minimal ürikozürik etkisi vardır. NIDDM olgularında proteinüriyi azaltır. IDDM olgularında noradrenalin düzeyi tedavinin 6. haftasında azalmaktadır.

Losartan, 10<sup>-5</sup>-10<sup>-8</sup>M. doz aralığında AT-1 antagonizmasını in vitro olarak sağlamaktadır<sup>(86)</sup>.

Losartan monoterapisinde % 4.2 baş ağrısı, % 2 güçsüzlük/yorgunluk, % 2.4 diyare, % 1.3 dispepsi, %1.4-3.5 uykusuzluk gibi yan etkiler saptanmıştır. İlginç olarak üst solunum yolu enfeksiyonlarına % 7.9 oranında rastlanılmasıdır<sup>(86)</sup>. ACE inhibitörlerine göre öksürük insidansı çok azdır.

Losartanın diğer ilaçlarla belirgin bir etkileşimi yoktur. Farmakokinetiği warfarin, digoxin, hidroklorotiyazid, fenobarbütal ve simetidin ile etkileşime girmez. Hidroklorotiyazid ile antihipertansif etkinliği artar. ACE inhibitörleri, β blokerler, Ca<sup>++</sup> antagonistleri, α<sub>1</sub> blokerler ile kombine edilebilir. Nadiren K<sup>+</sup> değerini yükselttiği saptanmıştır.

Losartan, AT-1 antagonizması ile ekstraselüler sıvıdaki Ca<sup>++</sup> iyonlarının hücre içine girmesini engellemektedir. Bununla beraber losartanın, hücre organeli

sarkoplazmik retikulumdan sitozola salınan  $Ca^{++}$  üzerine etkisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle hücre içinde azalan  $Ca^{++}$ , sarkoplazmik retikulum tarafından relatif olarak arttırılır. NO sentezinin bu aşamada losartan tarafından uyarılıp uyarılmadığı bilinmemektedir<sup>(87)</sup>.

Losartan, tansiyonu düşürürken total koroner kan akımını azaltmaz. Kaptiril ise normal ve stenotik koroner damarlarda akımı arttırır<sup>(88)</sup>. Losartan, izole koroner arterlerde anlamlı olarak vazokonstrüksiyonu azaltmıştır<sup>(89)</sup>.

İlaca karşı olan hipersensitivite tek kontrendikasyonudur.

#### **2.4. Damar yapısı, ateroskleroz, greft hastalığı ve endotel fonksiyonları:**

Genel olarak damar duvarı 3 morfolojik tabakadır: *İntima, media, adventisya*. Kapiller damarlarda sadece intima vardır. *İntima*, lümene bakan tek sıra endotel hücreler aracılığıyla kan ile temas halindedir. *Media* tabakasından internal elastik lamina ile ayrılmıştır. İnternal elastik laminada mikroporlar vardır ve geçirgen bir özellik gösterir. *Media*, elastin, kollojen ve peptidoglikanların içinde düz kasların bulunduğu orta tabakadır. *Media* kalınlığı ile damar tonusu ve iskemiye duyarlılık arasında pozitif korelasyon vardır. *Media* tabakasından elastin katmanlarının sayısı ve geometrisi vazokonstrüksiyonda önemlidir. *Adventisya*, eksternal elastik lamina ile mediadan ayrılır. Vazovazomlar, sinir, fibröz ve yağ doku içerir<sup>(90)</sup>.

Arterler, *media* tabakasındaki elastik lamina ve düz kas sayılarına göre farklı sınıflara ayrılırlar: *Elastik arterler*, aorta ve çıkan dallarıdır. *Musküler arterler*, orta çaplı femoral, brakial ve radial arterlerdir. *Arterioller*, organların küçük arterlerinden kapillerlere kadar olan damarlardır<sup>(90)</sup>.

Elastik arterlerde *media* tabakasından 8 ile 12 adet elastik lamina vardır. Musküler arterlerde sadece internal ve eksternal elastik lamina bulunmaktadır. Genel olarak musküler arterler periferik arterlerdir. Yapılan çalışmalarda elastik arterlerin



konstrüksiyon yanıtının yavaş ve kısa süreli, elastik arterlerin ise hızlı ve daha uzun süreli olduğu gösterilmiştir<sup>(91,92)</sup>. İTA elastik, RA ve koroner arterler musküler arterlerdir<sup>(91)</sup>.

Venlerin arterlere göre çapları geniş ve düz kas tabakası daha azdır. Sempatik nöronlarla uyarılırlar.

Arteryel greftler de fonksiyonel olarak sınıflandırılmaktadır:

- **Tip 1-Somatik arterler:** İTA.
- **Tip 2-splanik arterler:** Gastroepiploik ve inferior epigastrik arter.
- **Tip 3-ekstremité arterleri:** RA, ulnar arter.

Tip 2 ve 3 arterlerin vazospastik özellikleri Tip 1' den fazladır<sup>(93)</sup>. RA, media tabakası İTA' e göre daha incedir, bu nedenle iskemiye daha çok duyarlıdır. Reseptör bağımlı vazokonstrüksiyon RA' de daha farklıdır.

Ateroskleroz etyolojisinde sistemik hipertansiyon, DM, hiperkolesterolemi, sigara, östrojen eksikliği, hiperhomosistinemi, ailesel faktörler rol oynar. Aterokleroz patofizyolojisinde: *Evre 1* yani *başlangıç evresinde*, damar duvarında makrofaj köpük hücreleri saptanır. *Evre 2*, yağ çizgilerinin olduğu, hücre içi lipid birikiminin olduğu evredir. *Evre 3*, hücre dışı lipid birikimi olur ve mikroskop da *preaterom plaklar* saptanan dönemdir. *Evre 4*, lipid adacıklarının yani *ateromun* olduğu evredir. *Evre 5*, fibroaterom yani damar stenozunun baladığı evredir. *Evre 6*, plağın enzimatik dejenerasyonu ile rüptüre olduğu, hematoma, hemoroji, trombüsüve total oklüzyonun olduğu dönemdir<sup>(90)</sup>.

CABG operasyonlarında damarlar, transmural basınçta, lümeden geçen kan hızı ve pulsatilitede ki artışlara postoperatif ilk anlardan itibaren yanıt vermeye başlarlar. Bu yanıt, zamanla bağlantılı olarak 3 şekilde olur<sup>(94)</sup>.

1. **Tromboz ( Operasyondan sonra ilk 1 ay )**
2. **İntimal hiperplazi ( 1 ay-1 yıl )**
3. **Greft ateroskleroza ( 1 yıldan sonra )**



*Greft patency* ( Damarın uzun dönem açık kalması ), bir çok faktörden etkilenmekle birlikte; yukarıda belirtilen 3 patolojik süreçler, uzun süreli açık kalmayı engellerler. Uzun dönem patency; cerrahi kalite yanında damarın vazodilatasyon, antiagregasyon ve vazospastisite özellikleri ile greftin distal run-off' una bağlıdır<sup>(95)</sup>. Cerrahi olarak greftin hazırlanmasındaki teknik ilerlemeler ile birlikte, özellikle RA için, diltiazem ve diğer dilatatör ajanların klinik kullanımları sonucu *patency* oranları yükselmiştir.

Bypass yapılan greftler, akım dinamiğindeki değişikliğe erken dönemde tromboz ile yanıt verirler. Greftlerin % 3-12' si operasyondan sonra ilk ay tıkanmaktadır<sup>(96)</sup>. Bunun nedeni genellikle ameliyat sırasında endotele yapılan hasardır<sup>(97)</sup>.

Postoperatif 1 ay-1 yıl arasında gelişen hiperplazi aterosklerozun gelişmesinde ilk basamaktadır ve erken dönem koroner anjiyografilerde saptanamaz<sup>(98)</sup>. Zedelenen intima, trombositlerden ve intimaya göç etmiş makrofajlardan salgılanan *growth* faktörler ve sitokinlerin etkisiyle media tabakasında ki düz kas hücreleri proliferer olur ve intimaya göç ederler. İntimada aktive olan düz kas hücreleri ekstraselüler matriks artışını artırarak intimal hiperplaziye neden olurlar.

Postoperatif 1. yıldan kısa bir süre sonra sonra ateroskleroz gelişebilmektedir. Anjiyografik olarak tespit edilir. Yıllar geçtikçe ateroskleroz, stenoza dönüşür ve trombüse neden olur.

Bütün bu patolojik olaylar genel olarak "*Greft Hastalığı*" olarak tanımlanır.

Operasyon sırasında grefte yapılan mekanik, termal ve basınç travmaları ile greftin, iskemiye maruz bırakılıp tekrar reperfüze edilmesi ile ortaya çıkan süperoksit radikallerin endotele yaptığı zarar göz önüne alındığında; greft hastalığı ameliyat sırasında başlamaktadır<sup>(97,99)</sup>.

Damarın fiyolojik ve patofizyolojik en önemli fiziksel davranışı: *Vazodilatasyon, antiagregasyon ve vazokonstrüksiyondur*. Küçük lümenli laminer akım gösteren damarlarda lümeninde ki birim sıvının uyguladığı basınç değişimi ( $\Delta_p$ ), sıvının akım hızı ( $F$ ) ve lümen yarıçapı ( $r$ ), kan vizkozitesi ( $n$ ), damarın uzunluğu ( $l$ ), damar direnci ( $R$ ) ile orantılıdır ve *Poiseulli formülü* ile hesaplanır<sup>(100)</sup>.

$$\Delta_p = R / F = 8 n \times l / 3.14 r^4$$

Vizkozite ve damar uzunluğunun sabit kaldığı kabul edilirse, yarıçapı belirleyen vazodilatasyon ve vazokonstrüksiyonun önemi ortaya çıkmaktadır. Bununla beraber Poiseulli formülünün handikapı: İn vivo şartlarda damar uzunluğu ve vizkozitenin sabit kalmaması, ayrıca damarlarda her zaman laminer akım olmamasıdır. Büyük damarlarda basınç değişimi noninvazif olarak echodoppler ve invazif kateterler ile ölçülmektedir.

Damardaki kan akımı, beslediği organın gereksinimine göre lokal ve sistemik nörohumoral mekanizmalarla belirlenir. Lokal faktörler doku oksijen gereksinimi (metabolik) ve myojenik gereksinimidir.

Arterlerin hipertansiyona yanıtı vazodilatasyon, hipotansiyona yanıtı vazokonstrüksiyondur. Bu birbirinden bağımsız mekanizmalarla olur. Yükek akıma karşı verilen dilatasyon yanıtı endotel bağımlıdır. Vazoaktif maddeler ve nörohumoral uyarılara yanıt endotel yapısına göre farklılık gösterebilir. Örneğin; noradrenalin brakiyal arterde, hipertansif hastalarda daha fazla vazokonstrüksiyon yaparken; bu hastalarda noradrenalin sonrası  $Ca^{++}$  antagonistleri, nitratlara ve ACE ihhibitörleri verildiğinde oluşan vazodilatatör yanıt hipotansiyona rağmen daha fazladır. Oysa dihidralazin, propranol hipotansiyon yaparken brakiyal arterde vazokonstrüksiyon yapmaktadır. Arterlerdeki bu fark media tabakasındaki düz kasların tonusun ve media viskoelastikiyetinden kaynaklanmaktadır<sup>(100)</sup>. Viskoelastikiyet kompliyansı etkiler. *Kompliyans*, damar birim yüzeyine uygulanan basınca karşı verilen lümen çapındaki birim genişlemedir.  $Ca^{++}$  antagonistleri, nitratlar ve ACE ihhibitörleri vasküler rezistansı azaltırken, arteryal kompliyansı artırır. Bununla beraber, dihidralazin, propranol ise vasküler rezistansı azaltırken, arteryal kompliyansını da azaltır. Bu etkiler ilaçların etki mekanizması ve damarların duvar özelliklerinin kaynaklanmaktadır.

Venlerin arterlere göre dilatasyon kapasiteleri yüksektir. Bunun 3 nedeni vardır:

1. *Venlerin düz kas tabakası incedir.*
2. *Ven duvarında kollojen yüzdesi fazladır.*
3. *Sempatik innervasyon daha azdır.*

Venler, fizyolojik şartlarda yüksek basınç altında kalmazlar. Vücutta *pereload* ve dolaşan kan volümünü regüle etmektedirler.

Arteriyel ve venöz kompliyansı, baroreseptörler, sempatik aktivite, parasempatik ton, kardiyak *mekano reseptörler* ve RAS ile endotelial mediyatörlerin etkileşimi belirler. Kinik kullanımda bazı ajanların daha etkili olduğu damarlar vardır: Dihidralazin, arteriyel dilatasyon ile vasküler rezistansı azaltır ve kardiyak outputu artırır. Nitratlar, venöz dilatasyonu daha fazla sağlar, venöz dönüşü azaltır ve kardiyak outputu azaltır, arteriyel dilatasyon etkisi daha azdır. ACE inhibitörleri ile kombine olarak venöz ve arteriyel dilatasyon sağlarlar, kardiyak outputu etkilemezler vasküler rezistansı belirgin olarak azaltırlar<sup>(100)</sup>.

$\beta_1$  reseptörler kalp dokusunda dominanttır. Ancak vasküler dokuda  $\beta_2$  ve  $\alpha$  reseptörler dominanttır<sup>(100)</sup>. Yaşla birlikte  $\beta$  reseptörler azalır ve  $\alpha$  reseptörler hakim duruma gelir. Böylece yaşla birlikte damarda vazokonstrüksiyon yanıt artar. SV' nde  $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$  reseptörlerin her ikisi, İTA' de  $\alpha_1$  reseptörler vazokonstrüksiyon da rol oynar<sup>(101)</sup>.

Poligonal intimal hücreleri aynı zamanda endoteliumun önemli bir endokrin doku olmasını sağlarlar. *Histamin, badikinin, NO, prostaglandinler, lökotrienler, platelet aktive edici faktör, endotelin-1, growth faktörler, adezyon molekülleri, heparan sülfat, t-PA, trombomodulin Von Willebrand faktör, MHC-II antijenleri, ACE, EDHF, COX, TXA<sub>2</sub>* gibi moleküller endoteliumdan sentezlenir.

Endotel antitrombojeniktir: Bu fonksiyonunu (-) elektrik yüklü lümen yüzeyinin yine (-) elektrik yüklü eritrositleri itmesi ve NO-PgI<sub>2</sub> sentezi ile sağlamaktadır<sup>(102)</sup>.

Endotel antikoagülandır: Heparan sülfat, antitrombin-III aktivasyonu ile Faktör Xa-Ixa inhibisyonu sağlar. t-PA, ekstrinsik pıhtılaşmayı engeller, ayrıca fibrinolitik etkide gösterir. Trombomodulin, protein C aktivasyonunu artırır<sup>(102,103)</sup>.

Endotelin-1, Anj-II ile birlikte bilinen en güçlü vazospastik moleküldür<sup>(104)</sup>. Adrenalin, Ang-II, IL-1, trombin tarafından sentezi uyarılır. Damar düz kaslarında hücre içine Ca<sup>++</sup> girişini artırır. Yarı ömrü 4 dakikadır ve büyük ölçüde akciğerlerde inaktif edilir. Fizyolojik etkileri, NO' in hemen hemen tam tersidir. NO verildiğinde Endotelin-1 ile gerçekleşen vazospazm inhibe olmaktadır. Akut koroner sendrom patogenezinde de Endotelin-1 önemli rol oynar<sup>(105)</sup>.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi A.D.' nda, Etik Kurul onayı ( 26.01.2001 tarih, AEK-18 sayı ve proje no: 14 ) alındıktan sonra, yaşları 41-70 arasında olan 16 CABG hastası ile yapıldı.

Çalışmada kullanılan İTA, RA ve SV örnekleri İstanbul Memorial Hastanesi, Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi Florence Nightingale Hastanesi ve TDV 29 Mayıs Hastanesi' nde CABG operasyonu geçiren hastalardan sağlandı. Nitrat türevleri, ACE inhibitörleri ve AT-1 reseptör antagonisti kullanan hastalar çalışmaya alınmadı. Damar örneklerinin, endotel tabakaları korunmuş olarak 5 mm. uzunluğunda halka şeklinde kesildikten sonra etraf dokuları perioperatif olarak temizlendi. +4 °C' de Troyde solüsyonu içerisinde, soğuk zincire uyularak, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D Laboratuvar' ına getirildi ve damar halkaları kesilerek, örnekler dikdörtgen şekline getirildi. Ağırlıkları tartıldı.

Hastalardan alınan İTA, RA ve SV örnekleri, "**Kontrol**" ve "**Losartan ile inkübe edilmiş**" olarak 2 gruba ayrıldı. Her grup kendi içinde 13 İTA, 13 RA ve 13 SVG örneği içermektedir:

1. **Kontrol Grubu:** Toplam 39 örnek; 13 İTA, 13 RA ve 13 SV örneği.
2. **Losartan İnkübe Edilmiş Grup:** Toplam 39 örnek; 13 İTA, 13 RA ve 13 SV örneği.

Losartan, *Merc Sharpe and Dohme ( IRL ) Ltd. Şirketinden* kristalize toz formunda sağlandı. Losartan çözeltisi, ışık geçirmeyen şişede, distile su ile çözülerek elde edildi. Çözelti +4 °C' de ışık görmeyecek şekilde saklandı.

Bütün gruplar da örnekler yıkayıp temizlendikten sonra, 37°C' de CO<sub>2</sub> etüvünde ( % 5 CO<sub>2</sub> + % 95 oda havası ), 0,5 ml losartansız Troyde' s solüsyonu ve  $1 \times 10^{-5} M$ .<sup>(75,86,106)</sup> losartanlı Troyde' s solüsyonu çözeltisi ile ayrı ayrı 10 dk. inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, Sertorius tüpleri içerisinde 37°C' de 10 dk. süre ile 6000 devir/dk. santrifüj edildi Bu işlem sonunda dokular ve inkübasyon sıvıları ayrı ayrı eppendorflarda -20 °C' de donduruldu.

NO miktarı, *Griess yöntemi* <sup>(36,37,38,39)</sup> ile *R&D Systems DE 1500 Nitrite/ Nitrate (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) Colorimetric Assay* kiti kullanılarak indirekt olarak saptandı. Toplam nitrit miktarı *pmol/mg* doku olarak ifade edildi.

Bütün örneklerin analizi Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D Laboratuvar' ında yapıldı.

**İstatistiksel Analiz:** Gruplar arasında her parametre için istatistiksel olarak anlamlılık olup olmadığı;

- Gruplar birbirinden bağımsız olduğu,
- Her grupta incelenen denek sayısı 30' dan az olduğu için, *Kruskal Wallis Oneway ANOVA* analizi ile değerlendirildi. *Post Hoc test* olarak *Tukey* ve *Bonferroni* testleri uygulandı. Analiz sonucu;  $p < 0.05$  varlığında, gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olduğuna karar verildi.  $p > 0.05$  varlığında ise, gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığına karar verildi. Gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit edebilmek için, *Independent sample T Testi* yapıldı. Bütün gruplarda, değerlendirilen parametrelerin herbirinin, ayrı ayrı ortalamaları alınarak ( *spss 8.0 windows, mean  $\pm$  Std. Error of mean* ), gruplar arası istatistiksel karşılaştırmaları içeren grafikler yapıldı.



## 4. BULGULAR

Çalışma toplam 16 hasta ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik özellikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( Tablo-2 ).

**Tablo-2: Demografik özellikler.**

	YAŞ ( yıl )	CİNSİYET ( K/E )
<b>KONTROL GRUBU</b>	54 ± 8,13	3 / 13
<b>LOSARTAN GRUBU</b>	54 ± 8,13	3 / 13

Çalışmamızda kullanılan İTA, RA ve SV örneklerinin ağırlıkları bakımından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır (  $p > 0,05$  ) ( Tablo-3 ).

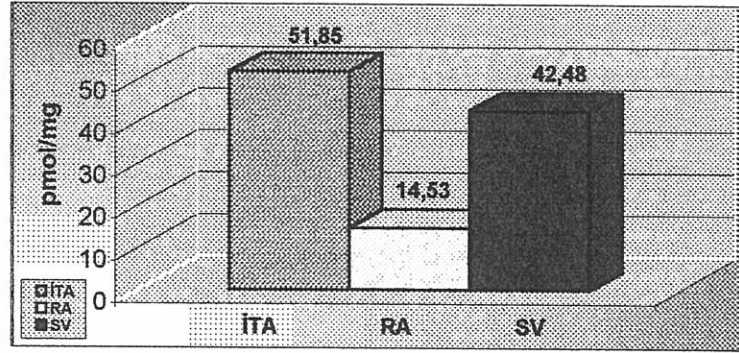
**Tablo-3: Ortalama greft ağırlıkları ( mg)( Ort ± SEM).**

	İTA	RA	SV
<b>Ağırlık</b>	9,65 ± 5,44	18,92 ± 8,24	26,88 ± 9,48

### **Kontrol grubu nitrit değerleri:**

Kontrol grubu İTA, RA ve SV nitrit değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (  $p < 0,005$  ). Nitrit değerleri, İTA' de 51,85 ± 15,33 pmol/mg., RA' de 14,53 ± 3,61 pmol/mg., SVG' inde 42,48 ± 19,32 pmol/mg.

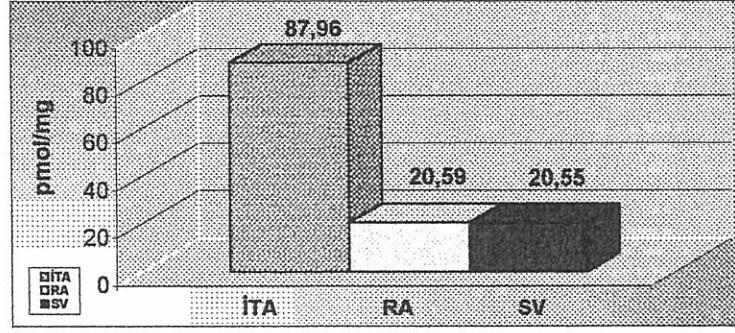
olarak bulunmuştur. İTA nitrit değerleri, RA nitrit değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturacak kadar yüksektir (  $p < 0.018$  ). RA nitrit değerleri ile SV nitrit değerleri arasında istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. Bu durum, kontrol grubundaki istatistiksel farklılığın İTA nitrit değerlerinden kaynaklandığını doğrulamaktadır. Bu bulgular Şekil-6' de gösterilmiştir.



Şekil-6: Kontrol grubu nitrit değerlerinin karşılaştırılması.

#### **Losartan grubu nitrit değerleri:**

Losartan grubu İTA, RA ve SV nitrit değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (  $p > 0.05$  ). Losartan grubu nitrit değerleri, İTA' de  $87,96 \pm 52,6$  pmol/mg., RA' de  $20,59 \pm 4,77$  pmol/mg., SV' inde  $20,55 \pm 4,57$  pmol/mg. olarak bulunmuştur. İTA nitrit değerleri, RA ve SV değerlerine göre oldukça yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu bulgular Şekil-7' de gösterilmiştir.



Şekil-7: Losartan grubu nitrit değerlerinin karşılaştırılması.

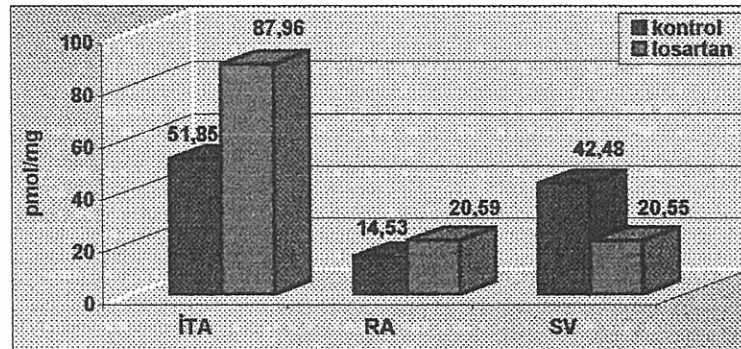
### **Kontrol ve Losartan grubu nitrit değerlerinin karşılaştırılması:**

İTA, RA, SV gruplarında, kontrol ve losartan grubu nitrit değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Losartan ile inkübe edilmiş İTA grubunda nitrit düzeyinin, kontrol grubu nitrit düzeyine göre arttığı; ancak bu nitrit artışının istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratmadığı saptanmıştır ( $p > 0,05$ ).

Losartan ile inkübe edilmiş RA grubunda nitrit düzeyinin kontrol grubu nitrit düzeyine göre arttığı; ancak bu nitrit artışının istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratmadığı saptanmıştır ( $p > 0,05$ ).

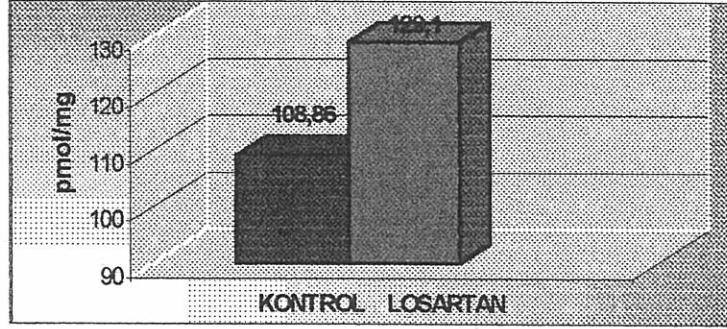
Losartan ile inkübe edilmiş SV grubunda nitrit düzeyinin kontrol grubu nitrit düzeyine göre azaldığı; ancak bu nitrit azalışının istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratmadığı saptanmıştır ( $p > 0,05$ ). Bu bulgular Şekil-8' de gösterilmiştir.



Şekil-8: Kontrol ve losartan gruplarının nitrit değerlerinin karşılaştırılması.

**Kontrol ve Losartan grubu toplam nitrit değerlerinin karşılaştırılması:**

Kontrol grubu İTA, RA, SV nitrit değerlerinin toplamı ile Losartan grubu İTA, RA, SV nitrit değerlerinin toplamı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (  $p>0.05$  ). Bu bulgular Şekil-9' de gösterilmiştir.



**Şekil-9: Kontrol ve losartan gruplarının toplam nitrit değerlerinin karşılaştırılması.**

## 5. TARTIŞMA

CABG operasyonu geçiren hastaların yaşam kalitesi ve süresi, kullanılan greftin *patency* süresine bağlıdır. Bu nedenle son yıllarda yapılan çalışmalar greftin *patency* süresini arttırmaya yöneliktir. Moleküler biyolojideki gelişmelerle birlikte damar fizyopatolojisinin aydınlatılması, *patency* süresi üzerine yeni ajanların etkilerinin araştırılmasını olası kılmıştır.

CABG operayonlarında greft olarak İTA ve RA kullanılan hastalara, çeşitli vazodilatatör ajanlar verilmektedir. Ancak; yan etkisi olmayan ve yeterli güvenilirlikte bir vazodilatatör ajan yoktur. Çalışmamızda losartanı seçmemizin nedeni: Losartanın bilinen arteryel ve venöz dilatasyon özelliğinin, damar fonksiyonlarında çok önemli olan NO uyarısı üzerinden gerçekleşip gerçekleşmediğine ışık tutarak, losartanın greft *patency* süresine olumlu etkisinin varolup olamayacağını irdelemektir. Çalışmamızın literatürdeki diğer çalışmalardan farkı; losartan ile NO arasında direkt bir ilişki olup olmadığını inceleyerek, losartanın koroner cerrahide vazodilatatör olarak yararlı olup olamayacağını aydınlatmaya yönelik olmasıdır.

CABG operasyonu geçiren hastalarda yaşam süresi ve yakınmaların yeniden başlaması; greftlerin *patency* yani açık kalmaları süreleri ile ilişkilidir. Uzun dönem *patency*: Cerrahi kalite ile birlikte, damarın vazodilatasyon, antiagregasyon, vazospastisite özellikleri ve greftin distal *run-off*' una bağlıdır<sup>(107)</sup>. İTA, *patency* süresi en uzun olan grefttir ve rutin olarak CABG operayonlarında kullanılmaktadır. Bununla beraber, artan reoperasyon CABG olguları ve İTA kullanımının kontrendike olduğu olgularda *patency* süresini uzatabilmek için, alternatif arteryel greft arayışı başlamıştır. Sağ gastroepiploik arter, inferior epigastrik arter, ulnar arter ve RA greftleri kullanılmaya başlanmış ve farklı *patency* oranları bulunmuştur<sup>(108)</sup>. İlk olgularda özellikle RA' in spastik özelliği nedeniyle erken dönem greft oklüzyonları, cerrahi ekiplerde arteryel greftlere karşı güvensizliğe yol açmıştır. Fisk ve ark., 1976 yılında yaptıkları çalışma ile SV' nin RA' den üstün bir greft olduğunu göstermişler ve bu güvensizliği daha da arttırmışlardır<sup>(109)</sup>. Tüm bu nedenler sonucu, İTA dışında

arteryel greftler CABG operasyonlarında daha seyrek kullanılmaya başlanmıştır. Endotelyum histopatolojisi, endotelyumden salınan mediyatörler ve endotelyum fonksiyonları tanımlandıkça, özellikle RA kullanımı artmıştır. Ancak günümüzde de RA greftine karşı cerrahi ekiplerin kuşkusu devam etmektedir.

İTA, *patency* süresi en uzun olan grefttir. Kawachi K. ve ark., İTA kullanılan CABG olgularında özellikle geç dönem mortalite ve morbidite oranlarının, İFA kullanılmayan olgulara göre düşük bulmuşlardır<sup>(110)</sup>. Yang Z. ve ark., benzer sonuçlara ulaşmışlar ve İTA' nın endotel bağımlı relaksasyona çok hassas olduğunu ve düz kas hücrelerinde cGMP düzeyinin yüksekliğini özellikle vurgulamışlardır. cGMP yüksekliği, NO' in etkilerinin daha kolay ortaya çıkmasını sağlamaktadır.

Schmalfluss ve ark., İTA'de SOD aktivitesi ile birlikte artan bir NO salınımı olduğunu göstermişlerdir<sup>(111)</sup>. Bu salınım SVG' de anlamlı olarak daha azdır. Safen greft hastalığında bu özelliğinde rolü olabilir. Zhang X. ve Hintze TH. greftlerde, Ca<sup>++</sup> kanal blokerlerinin NO sentezini arttırmadığı göstermişlerdir<sup>(112)</sup>.

Arteryel greft kullanımı arttıkça, greftlerin morfolojik ve biyokimyasal özelliklerini araştıran çalışmalar yanında klinik çalışmalarda da artış olmuştur. Borger ve ark., arteryel greft kullanılan 3014 olguyu incelediklerinde: Tekli LİTA kullanılan olguların mortalite ve morbidite oranlarını LİTA+RA ve LİTA+RİTA kullanılan olgularından yüksek bulmuşlardır. Aynı çalışmada erken dönemde LİTA+RA kullanılan olgularda, LİTA+RİTA kullanılan olgularına göre yoğun bakımda kalış süreleri, kan transfüzyonu miktarları ve mediastinit oranları düşük bulunmuştur. Risk faktörleri yüksek olan olgularda RA kullanımı da fazladır. Uzun dönemde RA ve RİTA arasında mortalite ve morbidite oranları arasında fark bulunmamıştır<sup>(113)</sup>.

Çalışmamızda da kontrol İTA, RA, SV grupları NO düzeyleri ile losartan ile inkübe edilmiş İTA, RA, SV grupları NO düzeyleri sonuçlarına göre:

- Losartan ile inkübe edilmiş İTA grubunda NO düzeyinin, kontrol grubu NO düzeyine göre arttığı; ancak bu NO artışının istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratmadığı gösterilmiştir.
- Losartan ile inkübe edilmiş RA grubunda NO düzeyinin kontrol grubu NO düzeyine göre arttığı; ancak bu NO artışının istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratmadığı gösterilmiştir.

- Losartan ile inkübe edilmiş SV greftlerinde NO düzeyinin kontrol grubu NO düzeyine göre azaldığı; ancak bu NO azalışının istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratmadığı gösterilmiştir.
- Losartan ile inkübe edilmiş İTA, RA, SV grupları NO düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldığında: İTA NO değerinin, RA ve SV greftlerine göre yaklaşık 4 kat yüksek olduğu saptanmıştır. Ancak, NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gösterilmiştir.
- İTA, RA, SV kontrol grupları NO düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldığında: İTA, NO düzeyinin RA ve SVG' ine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratacak şekilde yüksek olduğu gösterilmiştir. RA ve SVG kontrol grupları NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gösterilmiştir.
- Kontrol grubu İTA, RA, SV NO değerlerinin toplamı ile Losartan grubu İTA, RA, SV NO değerlerinin toplamı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gösterilmiştir.

Magdi H. Yacoub ve ark., reoperasyon yaptıkları CABG olgularında 20 yıllık SV' lerde ki ACE aktivasyonunu, İTA' dan ve yeni kullanıma hazır SV' den anlamlı olarak fazla bulmuşlar ve SV oklüzyonununundan lokal Anj-II' yi sorumlu tutmuşlardır<sup>(107)</sup>. Losartan ile ilgili çalışmalar değerlendirildiğinde, özellikle SV greftinin *patency* süresinin losartan ile uzatılabileceği saptanmıştır<sup>(106)</sup>. Yaptığımız çalışmada, kontrol grubu SV NO düzeyi, İTA' den istatistiksel olarak anlamlı olacak derecede düşüktür. Bulduğumuz sonuç, Yacoub ve arkadaşlarının sonuçları ile birleştirildiğinde, SV greftinde Anj-II' ye karşı damarı koruyabilecek fonksiyonel antagonist NO' in yetersiz olabileceği ve *patency* süresi kısalığının bu nedenle olabileceğidir. Ayrıca; SV' de dilatator etki gösteren losartan, anlamlı olmamakla beraber SV' de NO düzeyini, beklenenin tersine, azaltmıştır. Bunun mekanizması bilinmemektedir! Bu bulgu bizi; losartana bağlı olan dilatasyonun SV' de NO üzerinden gerçekleşmemiş olabileceği sonucuna götürmüştür. Ancak; Yacoub ve ark., losartan ve ACE inhibitörlerinin, ven greftlerinin *patency* sürelerini deneysel olarak uzattığını göstermeleri de göz önünde tutulmalıdır<sup>(106)</sup>.

Endotel bağımlı relaksasyonda NO' in rolü önemlidir. Chester AH. ve ark., SVG hazırlanması sırasında greftin şişirilmesinin endotel hasırına yol açarak endotel

bağımlı relaksasyonu azalttığını göstermişlerdir<sup>(114)</sup>. Janet ve ark., intimal hasar gelişen SV' lerde endoteline ( ET-1<sub>A</sub> reseptörü üzerinden ) bağlı spazmın arttığını göstermişlerdir<sup>(115)</sup>. Endotelyum hasarı asetilkolin ile uyarılan NO yanıtını engeller. SV greft hastalığının perioperatif intimal hasar ile başladığı cerrah tarafından göz önünde tutulmalıdır.

CQ Yang ve ark., RA grefti için *patency* süresini olumsuz etkileyen en önemli ajan olarak ET-1 ve Anj-II' yi göstermişler ve NO' in, ET-1 ve Anj-II nin fonksiyonel antagonisti olduğunu; ayrıca RA *patency* süresinin, spazmolitik ajan kullanımına bağlı olarak uzadığını belirtmişlerdir<sup>(108)</sup>. Çalışmamızda; kontrol grubu RA NO düzeyi, İTA' den istatistiksel olarak anlamlı olacak derecede düşüktür. Kontrol grubu RA ve kontrol grubu SV arasında istatistiksel olarak anlamlılık olmamakla beraber; RA NO düzeyi SV' de yaklaşık 1/3 oranında düşüktür. Yaptığımız çalışmada; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında losartan, RA greftinde NO düzeyini istatistiksel olarak anlamlılık olmamakla beraber arttırmıştır. RA kontrol grubu bazal NO düzeyinin çalışmamızda da bulunduğu gibi düşük olması: RA' in spastisitesini açıklamakta, postoperatif<sup>(108)</sup> ve perioperatif<sup>(116)</sup> dönemde spazmolitik ajan kullanımı gerekliliğini belirten yayınları destekler şekildedir.

Yaptığımız çalışmada; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında losartan, İTA greftinde NO düzeyini istatistiksel olarak anlamlılık olmamakla beraber arttırmıştır. Bununla beraber kontrol grubu bazal NO düzeyi, RA ve SV kontrol gruplarından istatistiksel olarak anlamlı olacak derecede yüksektir. Bu sonuç, He GW ve Liu ZG tarafından *NO mikroelektrotları* ile bulunan NO değerleri ile uyumludur<sup>(116)</sup>. Yang Z. Ve ark., İTA greftinde NO' in vazokonstrüksiyonu %30 oranında azalttığını bulmuşlardır. Kirklin JK ve ark., İTA' in NO düzeyi yüksekliğinin *patency* süresini uzatan önemli bir etken olduğunu., İTA greftinde intimal ve media kalınlığı ile NO düzeyi arasındaters bir korelasyon varlığını göstermişlerdir<sup>(117)</sup>. Losartan ile inkübe edilen İTA NO değeri, RA ve SV greftlerine göre yaklaşık 4 kat yüksek saptanmıştır. Bu bulgu istatistiksel olarak fark yaratmamakla beraber, dikkat çekicidir.

Homolay ve ark., PGI<sub>2</sub> sentezinin İTA' de SV' e göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir<sup>(118)</sup>. PGI<sub>2</sub>, NO ile sinerjistik etki gösterir.

Bu çalışma in vitro olarak losartan ile greft parçalarını inkübe ederek yapılmıştır. İn vivo şartlarda olduğu gibi damar duvarına bir *shear stress* etkinin



olmaması, endotelyumdan salınan veya sistemik etkili medyatörlerin ortamda bulunmaması, çalışmada seçilen yöntem gibi nedenlerle; losartanın NO düzeyine olan etkisinin, başka çalışmalarda, bizim bulgularımızdan farklı olabileceği göz önünde tutulmalıdır. Losartan kullanılan İTA NO değeri, SVG ve RA gruplarındaki NO artışından istatistiksel olarak anlamlı değildir; fakat dikkat çekici derecede yüksektir. Ancak; losartan konsantrasyonunun arttırılması, inkübasyon süresinin uzatılması, daha ağır ve uzun greft parçalarının kullanılması, ortamdaki NO düzeyinin korunması için transportun nitrojen ile yapılması, transport süresinin kısaltılması, daha çok sayıda örnek çalışılması ile deneylerde farklı sonuçlar bulunabilir. NO yarı ömrünün kısalığı da önemli bir dezavantajdır. Bu nedenlerle, çalışmamızda ki sonuçların in vitro bir çalışmanın sonucu olduğu, değişik in vitro çalışmalar ve in vivo sistemlerde farklı sonuçlara ulaşılabileceği de göz önünde tutulmalıdır.

Losartan: Anj-II' nin, vazokonstrüksiyon, ateroskleroz ve intimal hiperplazi etkilerini azaltmaktadır. NO ise Anj-II' nin fonksiyonel antagonistidir. Losartan-NO ilişkisinin aydınlatılması; CABG olgularında, hem greft relaksasyonunun arttırılması hem de greft hastalığının yavaşlatılması yolu ile bypass *patency* süresinin uzatılmasına yardımcı olabilir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

CABG operasyonu geçiren hastaların yaşam kalitesi ve süresi kullanılan greftin *patency* süresine bağlıdır. Moleküler biyolojideki gelişmeler, *patency* süresine etkili fizyopatolojik etkenleri; NO, Anj-II, Endotelin gibi damar fonksiyonlarında çok önemli rol oynayan mediyatörlerin hücre içi etki mekanizmalarını aydınlatmıştır. Bu nedenle; son yıllarda greftin *patency* süresini arttırmaya yönelik çalışmalarda artış vardır. Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda:

- İn vitro olarak  $1 \times 10^{-5}$  M. losartanın; İTA, RA ve SV örneklerinde NO üzerine arttırıcı etkisinin olmadığını,
- İTA NO düzeyinin, RA ve SV greftlerine göre fazla olduğunu, bu özelliğinin vazospazm ve ateroskleroza direnç oluşturarak *patency* süresinin uzunluğuna etkili olabileceğini saptadık.

Çalışmamız ışığında bu konudaki önerilerimiz:

- NO ile ilgili yapılacak benzer çalışmalarda farklı doz, daha uzun inkübasyon süresi, daha örnek sayısı ve daha uzun greft parçalarının kullanılması,
- İn vitro şartlarda greft örneklerinin lümenine basınç uygulanarak *shear stress* modeli uygulanması,
- İn vitro ortama Anj-II, endotelin, nitrogliserin,  $\text{Na}^+$  nitroprussid,  $\text{Ca}^{++}$  antagonistleri gibi mediyatör ve farmakolojik ajanların eklenmesi,
- Transport sırasında sıvı nitrojen kullanılarak daha soğuk ortamda, direkt NO ölçümü yapılması,
- RA greftindeki bazal NO düzeyi düşüklüğünün daha kapsamlı çalışılması,
- SV üzerine losartanın NO seviyesine olan olumsuz etkisinin daha detaylı çalışmalarla irdelenmesi, şeklindedir.

## 7. ÖZET

CABG operasyonu geçiren hastaların yaşam kalitesi ve süresi, kullanılan greftin *patency* süresine bağlıdır. Bu nedenle son yıllarda yapılan çalışmalar greftin *patency* süresini arttırmaya yöneliktir. Moleküler biyolojideki gelişmelerle birlikte damar fizyopatolojisinin aydınlatılması, *patency* süresi üzerine yeni ajanların etkilerinin araştırılmasını olası kılmıştır.

CABG operasyonlarında greft olarak İTA ve RA kullanılan hastalara, çeşitli vazodilatatör ajanlar verilmektedir. Ancak; yan etkisi olmayan ve yeterli güvenilirlikte bir vazodilatatör ajan yoktur Bu çalışmada, losartanın bilinen arteriyel ve venöz dilatasyon özelliğinin, damar fonksiyonlarında çok önemli olan NO uyarısı üzerinden gerçekleşip gerçekleşmediğine ışık tutarak, losartanın greft *patency* süresine olumlu etkisinin var olup olmayacağı irdelenmiştir. Çalışmamızın literatürdeki diğer çalışmalardan farkı; losartan ile NO arasında direkt bir ilişki olup olmadığını inceleyerek, losartanın koroner cerrahide vazodilatatör olarak yararlı olup olmayacağını aydınlatmaya yönelik olmasıdır.

Çalışmada kullanılan İTA, RA ve SVG örnekleri, CABG operasyonu geçiren hastalardan sağlandı. Nitrat türevleri, ACE inhibitörleri ve AT-1 reseptör antagonisti kullanan hastalar çalışmaya alınmadı. Damar örneklerinin, endotel tabakaları korunmuş olarak 5 mm. uzunluğunda halka şeklinde kesildikten sonra etraf dokuları perioperatif olarak temizlendi. +4 °C' de Troyde solüsyonu içerisinde, soğuk zincire uyularak laboratuvar getirildi ve damar halkaları kesilerek, örnekler dikdörtgen şekline getirildi. Ağırlıkları tartıldı.

Bütün gruplar da örnekler yıkanıp temizlendikten sonra, Sertorius tüpleri içinde 37°C' de CO<sub>2</sub> etüvünde ( % 5 CO<sub>2</sub> + % 95 oda havası ), 0,5 ml. taze losartansız Troyde solüsyonu içerisinde ve  $1 \times 10^{-5} M$ .<sup>(15, 96, 104)</sup> losartanlı Troyde solüsyonu çözeltisi ile ayrı ayrı 10 dk. inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, Sertorius tüpleri içerisinde 37°C' de 10 dk. süre ile 6000 devir/dk. santrifüj edildi Bu süre sonunda dokular ve inkübasyon sıvıları ayrı ayrı eppendorflarda -20 °C' de donduruldu.

NO miktarı, *Griess yöntemi* <sup>(76,77,78,79)</sup> ile *R&D Systems DE 1500 Nitrite/ Nitrate (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) Colorimetric Assay* kiti kullanılarak indirekt olarak saptandı. Toplam nitrit miktarı *pmol/mg* doku olarak ifade edildi.

Gruplar arasında her parametre için istatistiksel olarak anlamlılık olup olmadığı; *Kruskal Wallis Oneway ANOVA* analizi ile değerlendirildi. *Post Hoc test* olarak *Tukey* ve *Bonferroni* testleri uygulandı. Gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit edebilmek için, *Independent sample T Testi* yapıldı. Bütün gruplarda, değerlendirilen parametrelerin herbirinin, ayrı ayrı ortalamaları alınarak ( *spss 8.0 windows, mean ± Std. Error of mean* ), gruplar arası istatistiksel karşılaştırmaları içeren grafikler yapıldı.

Sonuç olarak; in vitro olarak  $1 \times 10^{-5}$  M. losartanın; İTA, RA ve SV örneklerinde NO üzerine arttırıcı etkisinin olmadığını; bununla beraber İTA, NO düzeyinin, RA ve SV' e göre fazla olduğunu saptadık. SV NO düzeyine olan losartanın olumsuz etkisi, RA bazal NO düzeyi düşüklüğü ve losartan ile inkübe edilen grupta ki İTA NO düzeyinin, RA ve SV' den yüksek olması da çalışmamızda dikkat çekmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *NO, Losartan, patency, CABG, greft.*

## 8. ABSTRACT

The life time expected and the quality of life of the patients who have gone under CABG operation is dependent on the patency of the graft. That's why the studies in cardiac surgery recently are aiming to increase patency. By the recent advances in molecular biology and vascular physiopathology, investigation of the effects of new agents on patency interval become possible.

Different vasodilator agents're used in patients who had ITA and RA graft used CABG operations. But there are no agent that has no side effects and acceptable safe. In this study, we investigate if the mechanism of arterial and venous dilatation affects of losartan by no stimulation and we calculate the possible positive affects of losartan on graft patency. The main difference of our study is the investigation of the possible direct interaction between losartan and NO and usage of losartan in coronary operations as a potent vasodilator agent.

The ITA, RA and SV samples used in the study were obtained from the patients who have gone under CABG operation. The patients who used nitrate derivatis, ACE inhibitors and AT-1 receptor antagonist weren't included in the study. The vessel samples were cut in to pieces of 5 mm. circles in which endothelium layer was protected and in which the surrounding tissues were cleaned perioperatively. The samples were brought to the lab in the + 4 °C Troyde's solution obeying the rules of cold chain. The vessel circles were cut and the samples were shaped as rectangles. The samples were weighed.

After all the samples were washed and cleaned in all groups, the samples were incubated in serotius tubes at 37 °C in CO<sub>2</sub> etüve (% 5 CO<sub>2</sub> + % 95 room air ), in 0,5 ml. fresh Troyde's solution without losartan and in Troyde's solution with  $1 \times 10^{-5}$  M. Losartan for 10 min. separately. by the end this time, all the samples and the incubating solutions were frozen at -20 °C in separate eppendorfes.

The amount of NO is calculated indirectly by using Griess method and the R&D Systems DE 1500 Nitrite/ Nitrate ( NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) Colorimetric Assay Kit. The total amount of nitrite is expressed as pmol/mg tissue.

Each parameters of research groups are statistically analysed by the Kruscal Wallis Oneway Anova and Tukey and Bonferroni tests are performed in Post Hoc analyses. Independent sample T test is applied to detect the group which created the difference among all the groups. In all groups the averages of the parameter that were evaluated were taken SPSS 8.0, and graphics were made concerning the statistical comparison of groups.

Finally, we found out that the  $1 \times 10^{-5}$  M. losartan in vitro has no effect on increasing the NO amount in ITA, RA, SV and hence the NO level in ITA is much more than in RA and SV. We also showed the negative effect of losartan and SV NO level, the low level of basal RA NO and that ITA NO level in the two groups which were incubated with losartan to be higher than in RA and SV.

**Key Words:** *NO, Losartan, patency, CABG, graft.*

## 9. KAYNAKLAR

1. Cannon OR. Role of NO in cardiovascular disease: Focus on endothelium. *Clin Chem* 1998; **448**(13): 1809-1819.
2. Brunton TL. Use of nitrite of amly in angina pectors. *Lancet* 1867; **2**: 97.
3. Parker JA. Nitrate theraph in stable angiina pectoris. *N Eng J Med* 1996; **316**: 1635-1641.
4. Furchgott RF., Zawadskii JV. The obligatory role of the endothelil cells in relaxation of arterial smooth muscle by Ach. *Nature* 1980; **288**: 373-376.
5. Palmer RMJ., Ferrige AG., Moncado S. NO release account for the biological activity of EDRF. *Nature* 1982; **327**: 534-526.
6. Ignarro LJ., Buga GM., Nood KS., Chaudhuri G. EDRF relaxing factor produced and release from artery and vein is NO. *Proc Natl Acad Sci* 1981; **84**: 9265-9269.
7. Liu Z., Wildriht SM., Schulze C., Conrad N., Reichard B. NO and ET in development of cardiac allograft vasculopathy. Potential target for therapaeutic interventions. *Atherosclerosis* 1998; **140**: 1-14.
8. Yui Y., Hattori R., Kosuag K. Calmodulin-independent NOS from rat polymorphonuclear neutrophylis. *J Biol Chem* 1991; **266**: 3369-3371.
9. Griendling KK., Alexander RW. Endothelial control of the cardiovascular system; recent advences. *Faseb J* 1996; **10**: 283-292.
10. Bernhardt J., Ischudi MR., Dohi Y. Release of NO from human vascular smooth muscle cells. *Biochem Biopshys Res Commun* 1991; **180**: 907-911.
11. Pohl U., Holtz J., Busre R. Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension* 1986; **8**: 37-44.
12. Lüscher TF., Diederich D., Siebenmann R. Difference between endothelium-dependent relaxations arterial and venous coronary bypass grafts. *N Eng J Med* 1988; **319**: 462-466.
13. Cohen RA., Shaphard JT,, Vanbutle PM. Inhibitory role of the endothelium in the responsa of isolated coronary arteries to platelets. *Science* 1983; **221**: 221-273.
14. Bredt DS., Ferris CP., Synder SH. NOS regulatory sites. Phosphorylation by cyclic MP dependent protein kinase C, calcium/calmodulin protein kinase.

- Identification of flavin and calmodulin binding sites. *J Biol Chem* 1992; **267**: 10976-10981.
15. Lincoln TM. cGMP and mechanisms of vasodilatation. *Pharmacol Ther* 1994; **41**:479-502.
  16. Goy MF. CGMP: The wayward child of cyclic nucleotide family. *Trends Neurosci* 1991; **74**:293-297.
  17. Busse R., Mulsche A. Calcium-dependent NOS synthesis in endothelial cytosol is mediated by calmodulin. *FEBS Lett* 1990; **265**:133-137.
  18. Long CJ., Shone TW. The release of EDRF is calcium dependent. *Blood Vessels* 1985; **22**:205-209.
  19. Deway JG., Vanhoutte PM. Anoxia and endothelium dependent reactivity in canine femoral artery. *J Physiol (London)* 1992; **335**:65-69.
  20. Pou S., Surichamorn W., Bredt DS. Generation of superoxide by purified brain NOS. *J Biol Chem* 1992; **267**:24173-24182.
  21. Kon U., Harris RC., Ichikawa T. A regulatory role of large vessels in organ circulation. *J Clin Invest* 1990; **85**:1728-1733.
  22. Yang Z., Diederich D., Scheneider K. Endothelium-derived relaxing factor and protection against contraction induced by histamin and serotonin in the internal thoracic artery and saphenous vein grafts. *Circulation* 1989; **80**:1041-1046.
  23. Lüscher PF., Vanhoutte PM. The endothelium. *Modulation of cardiovascular function*. Editor: Lüscher PF. Boca Raton/ FC. CRC Press, 1991; pp:1-125.
  24. Radomski MW., Palmer RMJ., Moncada S. Comparative pharmacology of EDRF, NO, Pgl<sub>2</sub> in platelets. *Br J Pharmacol* 1987; **92**:181-189.
  25. Radomski MW., Palmer RMJ., Moncada S. The role of NO and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. *Biochem Biophys Res Comm* 1987; **148**: 1482-1487.
  26. Mac Donald PS., Read MA., Dusting GJ. Synergistic inhibition of platelet aggregation by EDRF and Pgl<sub>2</sub>. *Thromb Res* 1988; **49**:437-443.
  27. Lüscher TF., Tanner FC. Endothelial regulation of vascular tone and growth. *Am J Hypert* 1993; **6**:283-290.



28. Scott BT., Schini VB., Elizondo E. Platelet-derived growth factor suppresses and fibroblast of NO by cultured aortic SMCS. Effect on cell proliferation. *Circ Res* 1992; 71:1088-1093.
29. Jacson CL., Schwartz SM. Pharmacology of smooth muscle cell replication. *Hypertens* 1992; 20:713-719.
30. Dubay RK., Overbeck HW. Culture of mesenteric arteriolar SMCS: Effect of PDFG, Ang-II and NO on growth. *Cell Tissue Res* 1994; 275:133-138.
31. Shimokawa H., Vanhoutte PM. Hypercholesterolemia causes generation impairment of endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets in porcine arteries. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13:402-407.
32. Forstermann U., Mugge A., Alheid U. Selective attenuation of endothelium-mediated vasodilatation in atherosclerotic human coronary arteries. *Circ Res* 1988; 62:185-190.
33. Shimokawa H., Flavahan NA., Vanhoutte PM. Natural course of the impairment of endothelium-dependent relaxations after balloon endothelium removal in porcine coronary arteries. *Circ Res* 1989; 63:740-744.
34. Thomas F. Lüscher, Raghendra K. Dubey, Endogenous and Therapeutic Nitrates-Chapter 90. Editor: Franz H. Messerelli. *Cardiovascular Drug Therapy*, Second Edition, WB Saunders Company Press, Philadelphia-Pennsylvania; 1996:832-852.
35. Louise Ignarro. Physiologic and pathophysiological significance of Nitric Oxide. Editor: Schomaker WC. *Textbook of Critical Care Schomaker/ Ayres/ Grenvik/ Hobrook*. WB Saunders Company Press, London- New York; 1995:208-225.
36. Davies MG., Fulton GJ., Hagen PO. Clinical biology of Nitric Oxide. *Br J Surg* 1997; 82: 2598-2610.
37. Han M., Bart K., Johannes RH., Jonson PLM. Nitrite and Nitrate determinations in plasma: A critical evaluation. *Clin Chem* 1995; 41/6:892-896.
38. Marzinzig M., Nussler AK., Stadler J., Marzinzig E., Barttilen W., Nussler NC., Beger HG., Morris SM Jr., Bruckner UB. Improved methods to measure and products of Nitric Oxide in biological fluids: Nitrite, Nitrate and Nitrosothiols. *Eur J Clin Invest* 2001 Feb; 31(2):56-163.
39. Dirsch UM., Stuppner H., Vollmar AM. The Griess: Suitable for a bio-guided fractionation of antiinflammatory plant extract ? *Planta Med* 1998 Jun; 64(5): 423-426.
40. Dubay RK., Ganten D., Lüscher TF. Enhanced migration of smooth muscle cells from Ren-2 transgenic rats in response to Angiotensin-II. Inhibition by Nitric

Oxide. *Hypertens* 1993; **22**:412-418.

41. Lionel H. Opie, The renin-angiotensin-aldosterone system and its role in cardiovascular regulation. Editor: Lionel H. Opie, *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors, Third Edition*. Auther Publishing House-New York, Universty of Cape Town Press, 1999:pp 1-22.
42. Morris RJ., Iwmoto HS., Reid IA. Localization of angiotensinogen in rat liver by immunocytochemistry. *Endocrinology* 1979; **105**:790-796.
43. Katy KG., Murphy TJ., Wayne RA. Molecular Biology of RAS. *Circulation Vol: 87; No-6*:1816-1828.
44. Dzau VJ., Burt DW., Pratt RE. Molecular Biology of RAS. *Am J Physiol* 1988; **255**:563-573.
45. Mullins JJ., Burt DW., McTurk P., George H., Bramaer WJ. Molecular cloning of the two distinct renin genes from the DBA/2 Mouse. *Embo of J* 1982; **1**:1461-1466.
46. Dzau WJ., Ingelfinger JR., Pratt RE. Regulation of tissue RAS in angiotensin gene expression. *J Cardiovascular Pharmacol* 1986; **8 ( Supp 10 )**: 11-16.
47. Ondenti MA., Rubin B., Cushman DW. Design of spesific inhibitors of ACE. New class of orally active antihypertensive agent. *Science* 1977; **196**: 441-444.
48. Soubrier F., Alchene-Gelas F., Hubert C. Two pudative active centers in human ACE revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci* 1988; **85**:9386-9390.
49. Arthur C. Guyton, Arter Basıncının Düzenlenmesi: I. sinirsel refleksler ve öteki mekanizmalarla basıncın hızlı kontrolü. Editör: Arthur C. Guyton,, Bölüm 21, *Textbook of Medicl Physiology-7<sup>th</sup> Edition*, 1988,Saunders Company Press/Merck Yayıncılık-İstanbul, Cilt:2; sayfa:353-369.
50. Gaspare M., White G. Binding of valsartan to mammalian angiotensin AT-1 receptors. *Regulatory Peptides* 1991; **59**:303-331.
51. Jackson EK., Garrison JK. Renin and angiotensin. Editors in chef McGraw Hill *In Goodman and Gilmans the pharmacological Basis of Therapeatics*. Ninth edition, Hardman JG., New York 1996:733-758.
52. Yamada T., Horinchi M., Dzau VJ. Ang-II Type-2 receptor mediates programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci* 1996; **93**:156-160.
53. Unger T., Chin O., Chiko J., Stroth O., Zhu YZ. Angiotensin Receptors. *J Hypertension* 1996; **14(5)**:95-103.

54. Adriaan AW., Yigal MP., Hendrik B., Gerrit R., Ganten D., Wiek H. Van Gilst. Dual pathway for Angiotensin-II formation in human internal thoracic artery. *British J of Pharmacol* 1998; **125**:1028-1032.
55. Dzau VJ. Mechanism of protective effects of ACE inhibition on coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998; **19 (Suppl 1)**:2-6.
56. Ferrari R. Effect of ACE inhibition on myocardial ischemia. *Eur Heart J* 1998; **19 (Suppl 1)**:30-35.
57. Nada K., Sasaguri M., Idoishi M. Role of locally for Angiotensin II and Bradykinin in the reduction of myocardial infarct size in dogs. *Cardiovasc-Res* 1999; **27**:334-340.
58. Mento PS., Wilkes BM. Plasma Angiotensin and blood pressure during ACE inhibition. *Hypertension* 1987; **9 (Suppl III)**:32-48.
59. Okumura T., Ayajiki K. Conversion of Ang-I to Ang-II dog isolated dog renal artery: Role of different Angiotensin-II generating enzyme. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; **15**:353-359.
60. Urabe Y., Idoishi M., Sasaguri M. Beneficial effects of a serine protease inhibitor in peripheral vascular disease. *Am J Cardiol* 1993; **72**:218-222.
61. Chappel MC., Sykes A., Pirro NT. Metabolism Angiotensin 1-7 by ACE. *Hypertension* 1998; **3**:362-367.
62. Iyer SN., Chappel NC., Averill DB. Vasodepressant action of Angiotensin 1-7 unmasked during combined treatment losartan and lisinopril. *Hypertension* 1998; **31**: 699-709.
63. Ueda S., Masumori MS., Wade A., Unmemura S. Angiotensin 1-7 potentiates bradykinin-induced vasodilatation in man. *J Hypertension* 2001; **19(11)**:2001-2009.
64. Ferreria CM., Santoo RA., Almedia AP. Angiotensin 1-7 cardioprotective effect in myocardial ischemia/reperfusion. *Hypertension* 2001 Sep; **38(3)**:665-668.
65. Hanesworth JM., Sardinia MF., Kreblish LT. Elucidation of a specific binding site for Angiotensin 3-8, Angiotensin-4 mammalian heart membranes. *J Pharm Exp Therap* 1993; **268**:1036-1042.
66. Scich AG. Increases in cardiac kinins as a new mechanism to protect heart. *Hypertension* 1994; **23**:419-421.
67. Lmcsher TF. Angiotensin, ACE inhibition and endothelial control of vasomotor tone. *Basic Res Cardiol* 1993; **88 (Suppl 1)**:15-24.

68. Farthy RA., Corretero OA., Ho K. Role of kinins and NO in effects on ACE inhibitors on neointima formation. *Circ Res* 1993; 72:1202-1210.
69. Schrorck K. Role of prostaglandins in the cardiovascular effects of bradykinin and ACE-1. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20 ( Supply 9 ):68-73.
70. Node K., Idesh M., Sasagura M. Role of locally formed Angiotensin-II and bradykinin in the reduction of myocardial infarct size in dog. *Cardiovasc Res* 1993; 27:334-340.
71. Linz WG., Scholkens BA., Kaiser J. Cardiac arrhythmias are ameliorated by local inhibition of Angiotensin formation and bradykinin degradation with ramipril. *Cardiovasc Drugs Ther* 1989; 3:873-882.
72. Linz WG., Scholkens BA. ACE inhibition induced NO formation in cultured bovine endothelial cells and protects isolated ischemic rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1992; 24:909-919.
73. Gohlke P., Pees C., Unger T. AT-2 receptor stimulation increases aortic cyclic GMP in SHRSP by kinin dependent mechanism. *Hypertension* 1998; 31 (part 2): 349-355.
74. Linz W., Weimer G., Gohlke P., Unger T., Scholkens BA. Cardioprotective effect by ramipril after ischemia and reperfusion in animal experiment studies. *Z Kardiol* 1994; Suppl 4:53-56.
75. Varty K., Allen E., Sayers RN., London M. Influence of losartan and angiotensin receptor antagonist on neointimal proliferation in cultured human saphenous vein. *British J Surgery* 1994; 81:819-827.
76. Gregory JF., Marc GB., Lizzie B., Einar S., Per-Otto Hagen. Localized versus systemic Angiotensin-II receptor inhibition of neointimal hyperplasia in experimental vein grafts the specific Angiotensin-II receptor inhibitors L 158809. *Surgery* 1998; 123(2):218-227.
77. Powell JS., Clozel JP., Muller RKM., Kuhn H., Hefti F., Hosang M., Baumgartner HR. Role of Angiotensin-II in injury-induced neointima formation in rats. *Science* 1989; 245:186-188.
78. Janiac P., Pillon A., Prost AF., Vilaine JP. Role of Angiotensin subtype 2 receptor in neointima formation after vascular injury. *Hypertension* 1992; 20: 737-745.
79. MERCATOR STUDY GROUP. The Multicenter European Research Trial Cilazapril After Angioplasty to Prevent Transluminal Coronary Obstruction and Restenosis. *Circulation* 1992; 86:100-110.

80. Prescott MF., Webb RL., Reidy MA. ACE versus Angiotensin-II AT-1 receptor antagonist. *Am J Pathol* 1991; 139:1291-1296.
81. Pfeffer MA., Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990; 81:1161-1172.
82. Bettye S., Hennington H., Huimin Z., Miller MT., Granger JP., Recelhoff JF. Angiotensin-II stimulates synthesis of endothelial Nitric Oxide synthase. *Hypertension* 1998; 31 ( Part 2 ):283-288.
83. Prof. Dr. Rasim Enar. ACE İnhibitörleri. Editör: Prof. Dr. Hakan Kültürsaray. *Koroner Kalp Hastalığı Primer ve Sekonder Koruma. 8. Bölüm. Argos İletişim Hizmetleri ve Reklamcılık A.Ş. -İstanbul; 2001:401-452.*
84. Julie AA., Asrian H., Simon C., James BP., Jen DC., Magdi H. Yacoub. Differential action of Angiotensin-II and activity of Angiotensin Converting Enzyme in human bypass grafts. *J Thorac and Cardiovasc Surge* 1998; 116:206-212.
85. Michael A. Weber, Losartan. Editor: Franz H. Messerelli. *Cardiovascular Drug Therapy, Chapter 88, Second Edition.* Philadelphia-Pennsylvania. WB Saunders Company; 1996: 817-825.
86. Karen L. Goa and Antona J. Vagstaff. Losartan Potassium: A Review of its pharmacology, clinical efficacy and tolerability in the management of hypertension. *Drug* 1996 May; 51(5):820-845.
87. Pilert BM. The discovery and physiological effects of a new class of highly specific Angiotensin-II receptor antagonists. Editor: Laragh JH. And Brenner BM. *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management.* Rawen Press Ltd. Press-New York; 1990:2351-2360.
88. Ruocco NA., Bergelson BA., Yu TK., Gavras I., Gavras H. Augmentation of coronary blood flow by Angiotensin Converting Enzyme inhibition: Role of angiotensin and bradykinin. *Clin Exp Hypertens* 1995 Oct; 17(7):1059-1072.
89. Holmgren A., Pantew E., Erlinge D., Edvinsson L. İnhibition of Angiotensin-II induced contraction by losartan in human coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998 Oct; 32(4):662-664.
90. İnce Ü. Dolaşım Bozuklukları. Editör: Prof. Dr. Aykan Talia Bali. *Kısa Patoloji/W.A.D.. Anderson Synopsis of Pathology.* Nobel Tıp Kitabevi- Fatih Gençlik Matbaa İşletmesi- İstanbul; 1987:329-387.
91. Van Son JAM., Smedts I., Vincent JG., Van Lier JJ. Comparative anatomic studies of various arterial conduits for myocardial revascularization. *J Thoracic*

*Cardiovasc Surg* 1997; **99**:703-707.

92. Ivert T., Huttunen K., London C., Bjork VO. Angiographic studies of internal thoracic artery graft 11 year after coronary artery bypass graft surgery. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 1988; **96**:1-12.
93. Guo-Wei H., Chen QY. Radial artery has higher receptor-mediated contractility but similar endothelial function compared with internal thoracic artery. *Am Thoracic Surg* 1997; **63**(5):346-352.
94. Cannon OR. Role of NO in cardiovascular disease: Focus on endothelium. *Clin Chem* 1998; **448**(13):1809-1819.
95. Okamoto H., Sato K., Matsuura A., Sawazaki M., Maseki T., Yasuura K. Analysis of preoperative predictors influencing early patency of coronary artery grafts. *Kyobu Geka* 1992 Jul; **45**( Suppl ):705-710.
96. Motwani GJ., Topol EJ. Aortocoronary saphenous vein graft disease. *Circulation* 1998; **97**:919-931.
97. Ellis SE., Berner SJ., De Luca S., Tuzcu EM., Raymond RE. Late myocardial ischemic events after saphenous vein intervention. *Am J Cardiol* 1997; **79**:1460-1464.
98. Chesetro JH., Fuster V. Platelet inhibitor drugs before and after coronary artery bypass surgery and coronary angioplasty. The basis of their use. *Cardiology* 1986; **73**:292-305.
99. Rao GN., Berk BC. Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto oncogene expression. *Circ Res* 1992; **70**:593-599.
100. Edward D., Frohlich and Bertram Pitt. Arteriolar and Venous Vasodilators. Editor: Franz H. Messerelli. *Cardiovascular Drug Therapy, Chapter 89, Second Edition*. Philadelphia-Pennsylvania. WB Saunders Company; 1996:826-832.
101. Weinstein JS., Grossman W., Waintraub RM., Thurer RL., Jansen RG., Morgan KG. Differences in  $\alpha$ -adrenergic responsiveness between human internal thoracic artery and saphenous vein. *Circulation* 1989; **70**(6):1264-1270.
102. Van Son JAM., Smedts I., Vincent JG., Van Lier JJ. Comparative anatomic studies of various arterial conduits for myocardial revascularization. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 1997; **99**:703-707.
103. Verrier ED., Boyle EM. Endothelial cell injury. *Cardiovascular Surg* 1996; **62**:915-922.
104. Yangisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobeyashi M., Mitsui Y., Yazaki Y., Goto K., Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide

produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332:411-415.

105. Hathaway DR., March KL., Lash JA., Adam LP., Wilenski RL. Vascular smooth muscle: A review of the molecular basis of contractility. *Circulation* 1991; 83:382-390.
106. Julie AA., Asrian H., Simon C., James BP., Jen DC., Magdi H. Yacoub. Differential action of Angiotensin-II and activity of Angiotensin Converting Enzyme in human bypass grafts. *J Thorac and Cardiovasc Surg* 1998; 116:206-212.
107. Okamoto H., Sato K., Matsuura A., Sawazaki M., Maseki T., Yasuura K. Analysis of preoperative predictors influencing early patency of coronary artery grafts. *Kyobu Geka* 1992 Jul; 45( Suplly ):705-710.
108. Guo-Wei H., Chen QY. Radial artery has higher receptor-mediated contractility but similar endothelial function compared with internal thoracic artery. *An Thoracic Surg* 1997; 63(5):1346-1352.
109. Fisk RL., Brooks H., Callaghan JC., Duorkin J. Experience with radial artery of coronary artery bypass graft surgery. *Ann Thorac Surg* 1976 Jun; 21(6): 513-518.
110. Kawachi K., Kitamura S., Monta D., Kondo Y., taniguchi S., Seki T., Kawata T., Hasegama J., Yoshida Y., Hagihara Y. Late results of used coronary artery bypass grafting with the internal thoracic artery. *Kyobu Geka* 1992 Jul; 45 ( Supply 8 ): 665-670.
111. Schmalfluss CM., Chen LY., Botl JN., Staples ED., Mehta JE. Superoxide anion generation, superoxide dismutase activity and nitric oxide release in internal thoracic artery and saphenous vein. *Cardiovasc Pharmacol Ther* 1999 Oct; 4(4):249-257.
112. Zhang X., Hiutze TH. Amlodipin releases nitric oxide from canine coronary microvessels: an expected mechanism of action of calcium chanal-blocking agent. *Circulation* 1998 Feb; 17-97(6):576-580.
113. Borger MA., Cohen G Buth KJ., Rao U., Bozinowski J., Liaghati NN., Mallidi H., Fedor ER., Saver J., Christakis GT., Bhatnagar G., Goldman RS., Cohen EA., Frames SE. Multiple arterial grafts. Radial artery versus internal thoracic artery. *Circulation* 1998; 98( Suplly 19 ):7-13.
114. Chester AH., Butlery CP., Borland JA., Springell DR., Rothery S., Savers NJ., Polak JM., Magdi H. Yacoub. Structural biochemical and functional effects of distanding pressure in the human saphenous vein: Implication for bypass grafting. *Coronary Artery Dis* 1998; 9( 2-3 ):143-151.

115. Janet JM., Antony PD. Endothelium receptor expression and pharmacology in human saphenous vein graft. *Br J Pharmacol* 1999; 126(2):443-450.
116. He GW., Liuz E. Comparison of Nitric Oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated hyperpolarization between human radial artery and internal thoracic artery. *Circulation* 2001 Sep 18; 104(Supply 1 ):344-349.
117. David D., James B., Caulfeld D., Kirklin JK. Endothelium dependent response in long term human coronary artery bypass grafts. *Circulation* 1991; 83:402-411.
118. Homolay P., Bordanne JE., Takacs EI., Peterffy A. PGI<sub>2</sub>-like activity of internal thoracic artery and saphenous vein used coronary artery bypass grafts. *Orv Hetil* 1993 Apr 4; 134(14):731-735.