

Kardiyovasküler Sistem Hastalıklarında Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri

Experimental Animal Models for Cardiovascular Diseases

Dr. Edibe KARASU MİNARECİ,^a
Dr. Çağlar ÖĞÜTMAN^a

^aFarmakoloji AD,
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Antalya

Geliş Tarihi/Received: 29.07.2010
Kabul Tarihi/Accepted: 26.10.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Edibe MİNARECİ
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Farmakoloji AD, Antalya,
TÜRKİYE/TURKEY
edibekarasu@akdeniz.edu.tr

ÖZET Modern tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi, hastalıkların anlaşılması ve azaltılmasında hayvan deneylerinin önemi büyüktür. Tıp alanında yapılan hayvan deneylerinden vazgeçememizin en önemli nedenini bugüne kadar olan deneyimlerimiz oluşturmaktadır. Fizyolojik bilgilerin çoğu hayvan deneylerinden elde edilmektedir. Üstelik bu bilgilerimizin daha çok artması için bir sınır varmış gibi gözükmemektedir. Fizyolojik mekanizmaların daha iyi anlaşılması da bazı hastalıkların etiyolojilerinin ortaya çıkmasında, veya yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasında rol oynamaktadır. Ancak tüm bunlardan vazgeçilse bile bilimin en temel çıkış noktası olan “merak” vazgeçilmezdir. Günümüzde kardiyovasküler hastalıklar, dünyada başlıca ölüm nedenleri arasındadır. İnsanlarda gözlenen kardiyovasküler hastalıkların nedenlerinin, mekanizmalarının ve tedavi yaklaşımlarının araştırılmasında hayvan modellerinin kullanılması oldukça önemlidir. Kardiyovasküler araştırmalarda sıçan, uzun yıllardan beri temel model olarak kullanılmaktadır. Bu türde kalp hipertrofisi ve yetmezliği, miyokard infarktüsü, sistemik ve pulmoner hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalık durumlarını oluşturmak için deneysel prosedürler geliştirilmiştir. Ayrıca bu hastalıklara spontan (doğuştan) sahip olan sıçan türleri de yetiştirilmiştir. İnsandaki herhangi bir kardiyovasküler hastalık için geliştirilen hayvan modelinin ideal olabilmesi için 5 karakteristik özelliği taşıması beklenir. Bunlar 1) insanda izlenen hastalığa benzemeli, 2) kronik hastalık çalışmalarına olanak sağlamalı, 3) öngörülebilir ve kontrol edilebilir septomlar oluşturmali, 4) ekonomik, teknik ve hayvan etiği açısından kabul edilebilir olmalı, 5) kalple ilgili biyokimyasal ve hemodinamik parametrelerin ölçülebilmesine izin vermelidir. Bu derlemenin amacı da, kardiyovasküler hastalıklarda sıklıkla kullanılan deneysel hayvan modellerini ve kullanılan her modelin avantaj ve dezavantajlarını tartışmaktır.

Anahtar Kelimeler: Kalp ve damar hastalıkları; hastalık modelleri, hayvan; hipertansiyon; hipertansiyon, pulmoner; kalp yetersizliği

ABSTRACT Experimental animal models for cardiovascular diseases experiments using animals have played a crucial role in the development of modern medical treatments, and they will continue to be necessary as researchers seek to alleviate existing illness and respond to the emergence of new disease. We cannot think of an area of medical research that does not owe many of its most important advances to animal experiments. Cardiovascular disease is widely recognized as the most common underlying cause of mortality in all countries. In cardiovascular studies, animal models have allowed the study of cardiovascular disease in the early stages, as well as the investigation of the mechanisms of the pathogenesis of cardiovascular disease and the effects of drug intervention. The rat has been the animal model of choice for more than a century in cardiovascular research. Experimental procedures were developed to generate cardiovascular disease states in this species, such as systemic and pulmonary hypertension, cardiac hypertrophy and failure, myocardial infarction, and stroke. Furthermore, rats have been bred, which spontaneously develop such diseases. An ideal animal model for any cardiovascular disease in humans should have five characteristics: 1) mimic the human disease, 2) allow studies in chronic, stable disease, 3) produce symptoms which are predictable and controllable, 4) satisfy economical, technical and animal welfare considerations, and 5) allow measurement of relevant cardiac, biochemical and haemodynamic parameters. This review summarizes the experimental rat models for cardiovascular disease also aims to present the commonly used and some recently introduced rat models of cardiovascular diseases and to allow rational discussion of the advantages and disadvantages of each model.

Key Words: Cardiovascular diseases; disease models, animal; hypertension; hypertension, pulmonary; heart failure

Modern tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde, hastalıkların anlaşılması ve azaltılmasında hayvan deneylerinin önemi büyüktür.¹ Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünyada ölüm nedenleri arasında çok önemli bir yer tutmaktadır. Kardiyovasküler araştırmalarda sıçan, uzun yıllardan beri temel model olarak kullanılmaktadır.² Bu türde kalp hipertrofisi ve yetmezliği, miyokard infarktüsü, sistemik ve pulmoner hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalık durumlarını oluşturmak için deneysel prosedürler geliştirilmiştir. Ayrıca bu hastalıklara spontan (doğuştan) sahip olan sıçan türleri de yetiştirilmiştir. İnsandaki herhangi bir kardiyovasküler hastalık için geliştirilen hayvan modelinin ideal olabilmesi için 5 önemli karakteristik özelliği taşıması beklenir.³ Bunlar; insanda izlenen hastalığa benzemeli, kronik hastalık çalışmalarına olanak sağlamalı; öngörülebilir ve kontrol edilebilir septomlar oluşturmalı, ekonomik-teknik ve hayvan etiği açısından kabul edilebilir olmalı, kalple ilgili biyokimyasal ve hemodinamik parametrelerin ölçülebilmesine izin vermelidir. Kardiyovasküler sistem hastalıklarında kullanılan modeller konusunda bazı zorluklar da yaşanmaktadır. Örneğin; hipertansiyon veya kalp yetmezliği gibi durumlar insanlarda geniş-ölçekli nörohumoral adaptasyonların da eşlik ettiği yavaş gelişen hastalıklardır, oysa hayvan modellerinde bu hastalıklar ya cerrahi yöntemler yardımıyla ya da ilaç uygulamaları ile akut olarak oluşturulmaktadır. Öte yandan genç insanlarda kardiyovasküler hastalıklar yaygın değil iken yaşlanma ile birlikte görülme sıklığı artmaktadır. Buna karşılık birçok hipertansiyon ve kalp yetmezliği çalışmasında genç yetişkin sıçanlar kullanılmaktadır. Yaşlanmanın hayvan modeli yeni yeni detaylandırılmaktadır. Ayrıca sıçanların çoğu türünde yüksek kan lipid düzeylerinin varlığına karşın ateroskleroz gelişimi izlenmemektedir. Ancak yine de hayvan deneylerinin, tıbbın başka alanlarındaki ilerlemelerde de çok önemli bir yeri vardır. Örneğin; kalp cerrahisindeki gelişmelerin neredeyse tümü, hayvanlar üzerindeki deneylere dayanmaktadır. Bu derlemenin amacı da, kardiyovasküler hastalıklarda sıklıkla kullanılan deneysel hayvan modellerini ve kullanılan her modelin avantaj ve dezavantajlarını tartışmaktır.

KARDİYOYASKÜLER SİSTEM HASTALIKLARININ DENEYSEL MODELLERİNDE KULLANILAN HAYVAN TÜRLERİ

PRİMATLAR

Değişik hayvan türleri kardiyovasküler hastalık modeli olarak kullanılmaktadır.⁴ Primatlarla yapılan çalışmaların başarıları değişmektedir. En ideal model en küçük, en ekonomik ve en çok deneysel girişime izin verendir. Negatif özellikler olarak, bu hayvanlar uzun süre yaşarlar bu nedenle deneylerin de uzun sürmesi kaçınılmazdır, bu da maliyeti artırmaktadır. İnsanlar için tehlikeli olabilecek viral zoonozlar taşırlar. Ayrıca, primatların denek olarak kullanılması etik açıdan da bir takım sorunlar taşımaktadır bu da bu hayvanların yalnızca belirli araştırmalarda kullanılmasına neden olmaktadır.

DOMUZLAR

Domuzlar da primatlara benzeyen ateroskleroz gelişme riski, diyet profilleri, gastrointestinal sistem ve metabolizmaları sayesinde aynı avantajları taşımaktadırlar. En önemli dezavantajları büyük bedenlerinden dolayı yaşanan zorluklar ve çok miktarda ilaç tüketilmesi gerekliliğidir. Ancak minyatür domuz türlerinin geliştirilmesi ile bu sorun biraz olsun aşılmıştır. Bu türler toksikoloji, dislipidemi ve intraarteriyel stentlerin performansının değerlendirilmesi için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.⁵⁻⁸ Bu çalışmaların çoğundaki temel sorun, çoğunda kullanılan türün tam olarak belirtilmemesidir. Bazı çalışmalarda da kullanılan deneysel teknikler ayrıntılı olarak anlatılmamaktadır.

KÖPEKLER

Dolaşım fizyolojisinin çalışılmasında köpekler yaygın olarak kullanılmaktadır.⁴ Köpekler uygun vücut kitleleri sayesinde domuzlara göre nispeten çalışılması kolay hayvanlardır. Bunun yanı sıra bu hayvanlar et-obur olduklarından yüksek-lipid diyetlerine ve ateroskleroza dirençlidir. Ayrıca kardiyovasküler sistemleri insanlarınkinden çok farklı özellikler taşımaktadır.⁹ Kasılabilme yeteneği olan

bir dalakları olduğundan kan kaybı ve hipotansiyon bu hayvanlarda kolayca kompanse edilebilmektedir.¹⁰ Ek olarak, domuz, primat ve sıçanlardan çok farklı olarak çok zengin bir miyokardiyal kollateral dolaşım sistemine sahiptirler. Kediler hariç diğer türlerde görülmeyen bu özellik miyokard infarktüsüne belirli bir derecede karşı korunma sağlar. Çoğu memeli türünde kronik iskemiye yanıt, anjiyojenesis ve/veya kollateral damar gelişimi ile olmaktadır.¹¹ Bu süreç köpeklerde, domuzlar ve insanlardan çok daha etkilidir. Bu nedenle köpekler daha çok revaskülarizasyonun değerlendirilmesinin önemli olduğu çalışmalarda kullanılmaktadırlar.¹²

TAVŞANLAR

Tavşanlar küçük ve ucuz oldukları için ateroskleroz çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Diğer yandan, ot-obur olan tavşanların genetik olarak ateroskleroza yatkın olmaları beklenemez. Bu nedenle, vasküler lezyonların gelişimi için yüksek-kolesterollü diyet gerekmektedir. Duyarlı hayvanlarda orta-derecede kolesterol yüklemesi bile hiperkolesterolemi ve aort lezyonlarına neden olabilmektedir. Bunun yanı sıra insanlar ve tavşanlar arasında lipid metabolizması bakımından büyük farklılıklar bulunmaktadır. Diyete kazain yerine soya proteini eklenmesi tavşan ırkı için aterojenik olabilmektedir.

İnsanlarda ailesel hiperkolesterolemi, aterosklerotik lezyon gelişimi için bir risk olarak kabul edilmektedir. Kondo ve Watanabe, tavşanlarda saptadıkları bir mutasyon sonucunda Watanabe herediter hiperlipidemik tavşan ırkının geliştirilmesini sağlamışlardır.¹³ Bu hayvanların özelliği, yüksek derecede hiperkolesterolemi ile birlikte ilerlemiş aterosklerozun gelişmesidir. Bu mutasyon LDL reseptöründe bulunmakta ve LDL metabolizmasının etkilenmesine neden olmaktadır. Bu hayvanlarda yapılan çalışmalar sayesinde kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde LDL kolesterol düzeyindeki yükselmenin son derece önemli olduğu anlaşılmış ve statinlerin gelişimi hız kazanmıştır.

Bu konudaki başka bir hipotez ise, aterosklerozun inflamatuvar sürecin bir yansıması olduğudur. Daha önceden yapılan çalışmaların sonu-

cunda insan ateroskleroz lezyonlarında *Chlamydia pneumoniae*'nin sorumlu ajan olabileceği düşünülmüştür. Tavşanlarda *C. pneumoniae* enfeksiyonu, vasküler lezyon gelişiminin ilerlemesine neden olmuştur. Richardson ve ark. da tavşanlarda son derece yaygın izlenen bir hastalık olan nezle gelişiminin (*pasteurella multocida*) aterojenik sonuçlarının olup olmadığını araştırmışlardır.¹⁴ Aslında araştırmacılar bu çalışmada patojensiz hayvanları yüksek-kolesterollü diyet ile beslemiş ancak bu hayvanlarda aort lezyonu gelişmemiştir. Sonuçta, tavşanlarda yapılacak çalışmalarda hayvanlarda mikrobiyolojik sağlığın önemine dikkat çekilmiştir.

SIÇANLAR

1920'li yıllarda Wistar Enstitüsü'ndeki gelişmelerin ardından sıçanlar, fizyolojik ve metabolik çalışmalar için çok önemli bir duruma gelmişlerdir.¹⁵ Metabolizma ve fizyolojik benzerliklerinin yanı sıra, sıçanlar sosyal olmaları, uyum sağlama yetenekleri nedeniyle de insanlara benzerlik göstermektedirler. Sıçanlar da fareler gibi genetik uygulamalara yatkın hayvanlardır. Köpeklerde olduğu gibi normal bir sıçan, ateroskleroz gelişimine dirençlidir. Bu nedenle sıçanların kardiyovasküler hastalıkların incelenmesinde uygun bir model olmayacakları düşünülmektedir. Bu görüş aslında 'normal' bir sıçan için düşünülürse doğrudur. Ancak yıllar içerisinde kardiyovasküler hastalıkların incelenmesine uygun genetiği değiştirilmiş yeni sıçan türleri geliştirilmiştir. Aslında insanlar arasında da geçerlidir. Şöyle ki bazı insanlar kardiyovasküler hastalıklar için çok büyük risk grubunda iken bazıları bu duruma oldukça dirençlidir. Normal sıçanlar ise deneysel çalışmalarda çok değerli olan kontrol grubunu oluşturmaktadır.

DENEYSEL HAYVAN MODELLERİ

SİSTEMİK HİPERTANSİYON İÇİN DENEYSEL MODELLER

DOCA-Tuz Hipertansiyon Modeli

(Mineralokortikoid Hipertansiyon Modeli)

İnsanda izlenen hipertansiyonda tuz tutulması karakteristik bir özelliktir.³ Sıçanlarda oluşturulan deoksikortikosteron asetat (DOCA)-tuz hipertansiyon

modeli, yüksek tuz diyeti ile birlikte DOCA'nın hacim tutucu etkisine dayanmaktadır.^{16,17} Genellikle hayvanlara tek taraflı nefrektomi uygulandıktan sonra 50 mg DOCA tablet subkutan olarak implante edilir veya haftalık subkutanöz DOCA (25 mg/kg) enjeksiyonu 4-6 hafta boyunca uygulanır. Ayrıca eş zamanlı olarak içme suyuna %1 NaCl tuz yüklemesi yapılır.¹⁸ Nefrektomili sıçanlarda tek başına DOCA uygulamasının ya da tuz yüklemesinin kan basıncına bir etkisi olmamaktadır. Birlikte uygulamadan yaklaşık 1 hafta sonra, sistolik kan basıncı artmaya başlar, 4-6 haftalık tedaviden sonra kan basıncı ortalama 180 mmHg değerlerine ulaşır. Hipertansiyon gelişimi erkek sıçanlarda dişi sıçanlara göre daha çabuk ve daha şiddetlidir.¹⁹

Model, radikal olarak plazma renin-anjiyotensin sisteminin aktivitesinin azalmasıyla birliktedir. Bu nedenle, anjiyotensinden bağımsız olarak değerlendirilir ve genellikle yeni antihipertansif ajanların tanımlanması için kullanılır.³ İnsanlarda mineralokortikoid özellikle de deoksikortikosteronun hipersekresyonu oldukça nadirdir ve genellikle genetik bir defekt sonucudur.^{20,21} İnsanlarda en önemli mineralokortikoid olan aldosteronun tek başına uygulanması çok daha uygun olduğu halde aldosteron-tuz modeli çok az kullanılmaktadır. Hem DOCA hem de aldosteron-tuz modelleri, böbrek kapasitesinin bozulmasına ve hızlı gelişen hipertansiyon ile hipertrofiye neden olan tuz yüklenmesi temeline dayanmaktadır.

DOCA-tuz sıçanlarında 6 hafta boyunca konjestif kalp yetmezliği bulgularına rastlanmamaktadır. Başlangıçta tek taraflı nefrektomi ile ilişkili olarak ölüm oranları %20 iken bugün için bu oran %1-2 düzeylerine inmiştir. Son organ hasarı olarak kalp ağırlığı %30 oranında artmaktadır ancak kalp yetmezliği bildirilmemiştir.²² Böbrek değişiklikleri proteinüri ve glomerulosklerozis olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca sıçanlarda damarlarda endotelbağımlı gevşeme yanıtları da bozulmaktadır.

Diğer yandan hastalardan kaçınının tek bölümlü olabileceği ya da kaçında aldosteron hipersekresyonunun bulunabileceği veya hangilerinin akut hipertansiyona neden olacak kadar çok miktarda tuz tüketebileceği sorgulandığında as-

lında DOCA-tuz hipertansiyon modelinin birçok hastadaki hipertansiyon için gerçekçi bir model olamayacağı anlaşılabacaktır. Bu modeldeki hipertansiyon ve hipertrofi çok hızlı geliştiğinden ve çok şiddetli olduğundan, uzun süreli çalışmaların yapıldığı kronik hastalıklar için uygun değildir. Diğer yandan model, maliyet ve gerekli teknik donanım açısından oldukça ekonomiktir, günümüzde deneyimin artmasıyla da sadece uygulanan cerrahi girişimlere bağlı olarak en az mortalite gelişmektedir.

Nitrik Oksit Sentaz Blokajı Modeli

Nitrik oksit (NO), parakrin bir vazodilatör olup, vasküler tonusun ve miyokard kontraktilesinin düzenlenmesinde, trombosit agregasyonunun inhibisyonunda görev almaktadır.^{23,24} Bu nedenle hipertansiyon ve ateroskleroz gelişiminde oldukça önemlidir. NO sentaz (NOS) inhibe edilerek NO oluşumunun kronik blokajıyla oluşturulan hipertansiyon modeli hayvanlarda oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. NO sentezi, N^ω-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) veya nitro-L-arginin ile inhibe edilebilmektedir. L-NAME, 20-40-60 mg/kg periton içine veya ağızdan (içme suyuna karıştırılarak) uygulanmaktadır.^{25,26}

L-NAME uygulamasından 2 gün sonra kan basıncı yükselmeye başlamakta ve 4. haftada 180 mmHg düzeylerine ulaşmaktadır. Kan basıncındaki artmanın yanı sıra kalp ağırlığı da artmaktadır ve böbrek fonksiyonlarında azalma izlenmektedir. L-NAME'nin sıçanlara gestasyon sırasında kronik uygulanması ise (0.3 g/L, içme suyuna karıştırılarak) insanlardaki preeklampsiye benzeyen bir tablo oluşturmaktadır.²⁷

Hipertansiyonda NO oluşumundaki azalmanın rolü tam olarak anlaşılamadığından, NO sentaz inhibisyonunun uygun model olup olmadığına karar vermek için henüz erken olduğu düşünülmektedir. Ayrıca renin-anjiyotensin sistemi gibi santral mekanizmaların da bu modelin patogenezinde rolü olabileceğine ilişkin araştırmalar devam etmektedir. Bununla birlikte, bu model tekniğinin kolay olması ve düşük mortalite ile seyretmesi nedeniyle diğer modellere göre daha ön planda tutulmaktadır.

Renovasküler Hipertansiyon Modeli

Böbrek, kardiyovasküler homeostazda temel organ olmasına karşın böbrek hasarının gelişen hipertansiyonda önemi azdır.^{28,29} Renal iskemiye yanıt olarak gelişen renovasküler hipertansiyon modelleri renal arterlerin kliplenmesiyle renal kan akımının kısıtlanması esasına dayanır. Bu model ilk defa 1930'lerde Harry Goldblatt ve ark. tarafından tanımlandığından zaman zaman 'Goldblatt' hipertansiyonu olarak da isimlendirilmektedir.² İki temel model ile çalışılmaktadır.^{30,31} Bir-böbrek, bir klip modelinde [one-kidney, one clip model (1K1C)] bir böbrek çıkartılır; klip kalan böbreğin renal arterine koyulur. İki böbrek-bir-klip modelinde ise [two-kidney, one-clip model (2K1C)] her iki böbrek de korunur, bir tanesinin renal arteri bağlanır. Bu model kliplenmiş böbrekte azalan renal arter basıncına bağlı olarak keskin bir plazma renin aktivite artışıyla karakterizedir. İki-dört hafta içerisinde anjiyotensin II konsantrasyonu ve kan basıncı artar. Daha sonra plazma renin aktivitesi ile anjiyotensin II düzeyleri normale yakın düzeylere inerken özellikle intramural koroner arterlerin etrafında intersisyal fibrozis gözlenmeye başlanır. Birkaç ay sonra plazma renin aktivitesinde yükselme ve miyokard dokusunda perivasküler ve intersisyal fibrozis ile karakterize kronik faz gelişir. Tüm bu klinik insan patofizyolojisi ile de uyumludur. 2K1C sıçanları yüksek renin hipertansiyon modeli olarak özellikle anjiyotensin reseptör antagonistlerinin değerlendirildiği çalışmalarda kullanılmaktadır. Ancak literatürde bu modelin başarısızlığına ilişkin çalışmalar da yer almaktadır. Örneğin; Dussaule ve ark.nın yaptığı bir çalışmada kullanılan 105 sıçanın 19'unda hipertansiyon gelişmemiş, 27'sinde malign hipertansiyon gelişimi izlenmiş, 12'si ölmüş ve sadece 47 sıçanda model oluşturulabilmiştir.³²

Renovasküler hipertansiyon modeli, böbrek yetmezliğini izleyen hipertansiyonun araştırılmasına uygun iken, insanlarda gözlenen esansiyel hipertansiyona uygulanabilirliği tartışmalıdır.³³

Anjiyotensin II İnfüzyon Modeli

Vazokonstriktör peptid anjiyotensin II'nin düşük dozlarda (50-200 ng/kg dakika) mini pompa ile infüzyonu, sıçanlarda geliştirilen diğer klasik bir hi-

pertansiyon modelidir.^{34,35} Kullanılan dozlar ile 8-13 gün içerisinde yavaş yavaş gelişen bir hipertansiyon söz konusudur. Gözlenen bu etki, peptidin damar etkilerinden çok beyinde bulunan renin-anjiyotensin sistem aktivasyonu aracılığı ile gerçekleşmektedir.³⁶

SİSTEMİK HİPERTANSİYON İÇİN GENETİK MODELLER

Spontan Hipertansif Sıçanlar

Spontan hipertansif sıçanlar (SHR), 1960'lı yıllarda Kyoto'da Aoki ve Okamoto tarafından geliştirilmişlerdir.³⁷ Genetik hipertansiyon modeli olarak en sık kullanılan modeldir. Çalışmalarda Wistar Kyoto sıçanları (WKY) normotansif kontrol grubu olarak kullanılmaktadır.³ Hipertansiyon gelişimi yaş ve cinsiyet bağımlı olarak değişmektedir. İnsanlarda olduğu gibi hipertansiyon erkek sıçanlarda daha çabuk ve daha şiddetli gelişmektedir.³⁸ Kan basıncı 5-6 haftalık iken yükselmeye başlar ve sistolik kan basıncı 180-200 mmHg oluncaya kadar da yükselmeye devam eder. İn vivo çalışmalar hipertansiyonun erken dönemlerinde normal periferik direnç ile birlikte kardiyak out-put'un arttığını göstermiştir.³⁹ Hipertansiyonun yerleşmesiyle kardiyak out-put normale dönmekte ve hipertrofiye olmuş damarlarda periferik direnç artmaktadır. SHR'nin birçok organında kalp hipertrofisi, kalp yetmezliği ve böbrek yetmezliği gibi hipertansiyonun etkilerini gözlemek mümkündür. Bununla birlikte, endotel bağımlı gevşeme yanıtının baskılanması haricinde büyük damar problemlerine rastlanmamaktadır.

İnsandaki hipertansiyon çalışmalarında, hipertansiyonun neden olduğu sinyal mekanizma değişikliklerinin ve yeni antihipertansif ilaçların araştırılmasında genellikle erkek SHR kullanılmaktadır. Hipertansiyon hastalığını insanda çalışmak, kardiyovasküler sistem üzerinde direkt ve indirekt etkilerini ayırt etmenin güç olduğu genetik dispozisyon ve uyarıcı çevresel faktörlerin varlığı nedeniyle oldukça zordur. Araştırmacıların SHR'leri seçmelerindeki en önemli etken, her kolonide uniform poligenetik dispozisyonun varlığı ve uyarıcı faktörlerin uniform değişikliklere neden olmasıdır.⁴⁰ Hipertansiyon gelişiminden sorumlu genler konusunda günümüzde çok az şey bilindiğinden SHR modeli, gen haritalandırılmasına da

katkı sağlayabilir. SHR'lerin bir diğer avantajı da hipertansiyon gelişiminin insanda gerçekleşen sürece benzerliğidir. Tek farkı sıçanlarda hipertansiyonun insanlarda genel olarak izlenen yaşlardan daha erken gelişmesidir. Bu sıçanlarda pre-hipertansif bir dönem bulunduğundan hipertansiyon gelişiminin ve nedenlerinin araştırıldığı çalışmalarda da kullanılabilirler.⁴¹ Ayrıca SHR'ler hipertansiyonda cinsiyetin önemini araştıran çalışmalara da son derece uygun modellerdir.⁴²

Modelin dezavantajları arasında, tedavi edilmiş sıçanlarda kalp hipertrofisi gelişmesi ve bir çok sıçanda (18-24 haftalık) kalp yetmezliği oluşması, endotel-bağımlı gevşeme yanıtlarının bozulması, proteinüri ve kreatinin klerensin azalması gibi böbrek kaynaklı bulgular sayılabilir.²² Öte yandan SHR modeli hayati tehdit edici yaklaşımlardan yoksun olması, öngörülebilir ve kontrol edilebilir semptomlara sahip olması nedeniyle yaklaşık 40 yıldan bu yana ilaçların kan basıncını düşürmedeki etkinliklerini saptama ve hipertansiyon mekanizmalarını araştırmada yaygın olarak kullanılmaktadır.

Stroke-Prone Spontan Hipertansif Sıçanlar (SHR-SP)

Hipertansiyon inme için en önemli risk faktörüdür.⁴³ İnsanlarda 40 yaş altında oldukça nadir olan inme sıklığı, tromboz ve ateroskleroza bağlı olarak 65 yaş üstünde artmaktadır. Bu ırk, ileri yaşlarda inmeden ölen SHR'lerden üretilmiştir.⁴⁴ Ailesinde spontan inme öyküsü olan sıçanlar serebrovasküler hastalık insidansı yüksek başka bir SHR ırkı ile çiftleştirilmiştir. Bu sıçanlar yaklaşık 5 haftalık iken hipertansifdirler. Sistolik kan basıncı erkeklerde 250 mmHg'ya ulaşmaktadır. Ancak bu fenotipte kan basıncındaki yükselmeden çok serebral damar yapısındaki değişiklikler önemlidir. Tuz yüklemesinin yapılması hipertansiyon ve inme gelişimini hızlandırmaktadır. İnmenin başlangıç semptomları uyarılma hali, hiperirritabilite, daha sonra gelişen fiziksel ve davranışsal depresyon hali, apati, koma ve ölümdür. Sıçanlarda post-mortem saptanan kraniyal lezyonlar da insanlarda gözlenen bulgulara benzerdir. Bu nedenle SHR-SP modeli inmeye ve şiddetli hipertansiyona bağlı gelişen kalp hipertrofisine yönelik önleyici tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte SHR-SP sıçan-

lar, yetişkin dönemlerinin başlarında (52-64 haftalık) iken tuz yüklemesi yapıldığında ise daha erken (14-20 haftalık iken) ölmektedir. Oysa SHR yaklaşık 2 yıl, WKY ise 3 yıl yaşamaktadır. Bu nedenle bu modelin kısıtlanma noktalarından biri, insanlarda gözlenen inme yaşını tam yansıtamamasıdır.

Dahl'ın Tuz-Duyarlı Sıçan Modeli

Lewis Dahl, 1960'lı yıllarda iki sıçan ırkı geliştirmiştir.⁴⁵ Bunlardan birinde 6 hafta boyunca uygulanan %8'lik NaCl diyeti ile hipertansiyon gelişirken (Dahl-S), diğerinde bu diyete karşın hipertansiyon gelişmemiştir (Dahl-R). Dahl-S sıçanlara süttten kesildikleri dönemde tuz verilirse fulminan hipertansiyon gelişim izlenir ve 16. hafta civarı ölüm gerçekleşir. Tuz verilmeye daha sonra başlanırsa ölüm olmaz ve sistolik kan basıncı yaklaşık 185 mmHg civarında seyreder.⁴⁶ Ayrıca hayvanlar bazı yaşlarında normal veya düşük tuz diyetine karşın hipertansif olabilirler. Bunun aksine Dahl-R sıçanları yüksek tuz diyeti uygulansa bile normotansif kalırlar. Hipertansiyon ve kalp yetmezliği gelişiminin diyetdeki tuz titrasyonu ile kontrol edilebilmesi önemli bir avantajdır. Tuz alımı hipertansiyon patofizyolojisinde yer alan en önemli çevresel faktörlerden biridir. Modelde gelişen hastalık semptomları (kalp yetmezliği, kalp-akciğer ve karaciğer büyümesi) insan ile uyumludur. Diğer avantajları arasında kolay ve non-invaziv bir model olmasının yanı sıra, nispeten çabuk gelişmesi ve sürekliliği sayılabilir. Bu hayvanlar özellikle tuz alımının kan basıncındaki rolünün tartışıldığı çalışmalarda tercih edilmektedir.⁴⁷

Ayrıca, renin düzeyleri düşük olduğu için renin-anjiyotensin sisteminin inhibisyonuna yanıt verir. Tedavi etkinliğinde diüretikler, vazodilatör ajanlar ön sırada iken kalsiyum kanal blokerleri ve beta-blokerler daha geri plandadır.

KALP HİPERTROFİSİ İÇİN GELİŞTİRİLEN DENEYSEL HAYVAN MODELLERİ

Spontan Hipertansif Sıçanlar

SHR'ler, genellikle 2 yıllık yaşam döngülerinin son 6 ayında kalp yetmezliği gelişen ve kronik hipertansiyon için yaygın olarak kullanılan modellerdir.⁴⁸ Elektrofizyolojik çalışmalar SHR'lerin hipertrofiye sol ventriküllerindeki aksiyon potansiyellerinin

uzadığını göstermiştir. İyon kanal çalışmalarında ise bu sıçanlarda, içe doğrultucu (*inward rectifying*) K⁺ kanallarının fonksiyonunun bozulduğu izlenmiştir.⁴⁹ SHR'lerin (8-16 haftalık) kalp dokularında apopitozis de gözlenmiştir. İnsanlarda hipertrofi çoğunlukla kronik hipertansiyon ile birlikte seyrettiğinden, SHR'ler insandaki kalp hipertrofisi için gerçekçi bir modeldir. Ayrıca bu model kardiyovasküler hastalıklar için ideal bir modelin taşıması gereken tüm kriterlere de sahiptir.

Renal Arter Oklüzyon Modeli

Renal iskemi sonucu gelişen renovasküler hipertansiyon progresif olarak sol ventrikül hipertrofisi ve yetmezliği ile sonuçlanır.⁵⁰ Yetişkin kalpteki hipertansiyon, konsantrik ventrikül hipertrofisini uyarak duvar kalınlaşmasına neden olur. Cerrahi uygulamadan yaklaşık 12 hafta sonra, 2K1C sıçanlarda sol ventrikül ağırlığında %35'lik bir artışla birlikte sol kalp yetmezliği, sol ventrikül end-diyastolik basınçta artma, atım hacminde azalma ve belirgin ventrikül fibrozisi izlenir.⁵¹

Aort Bantlama Yöntemi

Aort bantlama yöntemi, sıklıkla uygulanan ve kalpte artmış basınç-yükünün uyardığı hipertrofiye neden olan cerrahi bir yöntemdir.⁵² Bu yöntem ile torasik aort veya abdominal aort orijinal çapın yaklaşık %30 oranında daraltılabilir.⁵³ Bantlamanın yerine bağlı olarak modelin klinik seyri değişir. Asendan aortanın kleplenmesi kalp yükünde ani bir artışa neden olarak hipertrofi ile sonuçlanır. Müdahaleden yaklaşık 28 gün sonra kalp ağırlığı %47 oranında artar, mortalite riski %10-15 civarında seyredir. Bu model genellikle hipertrofi sırasında hücre boyutu, miyofibril ve miyozin izoformları, apopitozis insidansı gibi değişikliklerin araştırılmasında kullanılır. Cerrahi prosedür kolaydır ve kısa zamanda kalp hipertrofisi oluşmasına olanak sağlar. Modelin dezavantajı insanda hiçbir zaman bu kadar kısa zamanda hipertrofi gelişmemesidir.

Katekolaminler (Zoprenalin ve Noradrenalin) ile Oluşturulan Kalp Hipertrofi Modeli

Kalbin adrenerjik uyarılması hemodinamik değişikliklerden bağımsız olarak kardiyomiyosit hipertrofisi ve kalpte fibrozise neden olmaktadır.^{54,55}

Sıçanlara mini pompalar (0.1 mg/kg/saat) veya günlük enjeksiyonlar (1.5 mg/kg/gün) halinde 7-10 gün boyunca β -reseptör agonisti ilaçlar uygulanır.⁵⁶ Yüksek noradrenalin konsantrasyonu β -reseptör down regülasyonu ile birlikte dir. Noradrenalin infüzyonu selektif sol ventrikül hipertrofisine neden olur ve hipertrofiye sol ventrikülde sAMP- aracılı pozitif inotropik yanıtlar azalır. İzoprenalin ise adenilat siklaz sinyal yolağının desensitizasyonunda kullanılır. İzoprenalin, miyokard nekrozuna ve sol ventrikül kavitesinde genişlemeye neden olur. Kalp ağırlığında %50'den fazla bir artma izlenir, ancak bu artış uygulamaya son verilince geri döner.

İzole Sağ Ventrikül Hipertrofi Modeli

Pulmoner arter bağlanarak sağ ventrikül basıncı artırılır ve pulmoner hipertansiyondan bağımsız bir şekilde sağ ventrikülde hipertrofi gelişmesi uyarılır.⁵⁷ Yedi haftalık sıçanların pulmoner arterlerinin 12 haftalık oluncaya kadar özel bir cerrahi girişimle çaplarının azaltılması, sağ ventrikül hipertrofisi ve sağ ventrikülde kollajen artımıyla sonuçlanır. Bu model, insandaki sağ kalp yetmezliği ile ilgili çalışmalarda kullanılabilir.

KALP YETMEZLİĞİ İÇİN GELİŞTİRİLEN DENEYSEL HAYVAN MODELLERİ

Kalp Yetmezliği Bulunan

Spontan Hipertansif Sıçanlar (SHR-F)

Bing ve ark. 18-24 haftalık SHR'lerin yaklaşık %57'sinde kardiyak dekompanasyon geliştiğini gözlemlemişlerdir.⁵⁸ SHR-F sıçanlar daha hareketsiz olmaları ve takipneik halleri ile fark edilmektedir. Ayrıca bu sıçanlarda perikardiyal effüzyon, atriyumda trombus ve kardiyomiyositlerde artmış apopitozis izlenmektedir. SHR-F modeli insanda hipertansiyonun neden olduğu kalp yetmezliği için oldukça uygun bir model olup, durum ile ilişkili tüm kardiyak, biyokimyasal ve hemodinamik parametrelerin değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. SHR sıçanlarda yetmezlik 2. yıl civarında gelişmektedir. Bu nedenle de yaşlanmanın etkileriyle de karışabildiğinden verileri yorumlamak güçleşmektedir. Ancak kalp yetmezliği yaşlanma ile daha komplike hale geldiğinden yaşlanmış SHR, çok daha gerçekçi bir model gibi gözükmektedir. Herhangi bir teknik donanım ih-

tiyacının ve mortalite riskinin olmaması modelin avantajları arasında yer almaktadır. Modelin kısıtlanma noktası ise uzamış süre nedeniyle maliyetin artmasıdır.

Kalp Yetmezliği Bulunan

Hipertansiyon Eğilimli Sıçanlar (SHHF)

Koletsy sıçanları ile SHR'lerin çiftleşmesi ile elde edilmiş bir ırktır.⁵⁹ Bu sıçanlar spontan hipertansiftir, %25'i obezdir. Erkeklerinde diyabet, dişilerde anormal glukoz toleransı izlenir. Üç-beş aylık iken kalp hipertrofisi vardır. On altı-yirmi aylık olunca konjestif kalp yetmezliği gelişir. SHR'lerde izlenen konsantrik hipertrofinin yerine bu sıçanlarda ekzentrik hipertrofi izlenir. Model yavaş ve kombine gelişen hipertansiyon, hiperinsülinemi ve diyabet nedeniyle insanda gözlenen durumla benzerlik taşımaktadır. Kısıtlanma noktası ise izlenen septomların çeşitliliğidir.

Koroner Arter Ligasyonu

Koroner arterlerin, çoğunlukla da sol ön inen arterin (LAD) geçici veya sürekli ligasyonu, miyokard infarktüsü için klasik bir modeldir.⁶⁰ Bu model kalp yetmezliği için de sıklıkla kullanılır. Anestezi altında uygulanan sol torakatominin ardından toraksın sağ tarafına hafif bir basınç uygulanarak kalp açığa çıkarılır, sol kulakçık ile pulmoner arter arasında yer alan LAD ayırt edilir ve proksimalinden tek sutur ile bağlanır. Bu modelin en önemli dezavantajı yüksek mortalite riskidir. Literatürde mortalite oranlarının %50 olduğu çalışmalar bulunmaktadır.⁶¹ Ligasyondan 3-4 hafta sonra sol ventriküldeki infarkt alanının büyüklüğü değerlendirilir. %20 oranında bir infarkt büyüklüğü miyokard infarktüs modeli olarak kabul edilirken, majör infarkt grubu olarak değerlendirilen gurupta infarkt, sol ventrikülün %40-50'lik kısmında izlenmektedir. Bu guruptaki sıçanlar kalp yetmezliği modelinde kullanılırlar. Bu sıçanlarda sağ ve sol ventrikül dolma basınçları artar, kardiyak out-put azalır. Septumda hipertrofi izlenmesine karşın sol ventrikülde canlı doku kaybına bağlı olarak ağırlıkta artma yoktur. Aslında koroner arter ligasyonu insanlarda izlenen koroner arter hastalığı ya da infarktüsün aynısı değildir çünkü hayvanlarda cerrahi müdahaleden önce tamamen normal damarlar ve miyokard dokusu vardır. Koroner arter li-

gasyonu uygulayamamak başlı başına bir kısıtlanma noktasıdır. Modelin diğer önemli bir dezavantajı da yüksek mortalite riski ve infarkt büyüklüklerindeki farklılıklardır. Ancak, hızlı gelişen bir model olması nedeniyle maliyet açısından büyük avantaj taşımaktadır.

Adriamisin (Doksorubisin)

Kanser tedavisinde kullanılan adriamisin yan etkisi olarak gözlenen kardiyotoksisite, konjestif kalp yetmezliği ve ölüme neden olabilmektedir.⁶² Adriamisin uygulanan sıçanlar genellikle kardiyotoksisitenin mekanizmasının anlaşılması ve önlenmesine yönelik araştırmalarda kullanılırlar. Sıçanlara 12 hafta boyunca 2 mg/kg/hafta şeklinde uygulanan adriamisin, kan basıncının ve kardiyak out-put'un azalmasına, plevra effüzyonu, assit ve karaciğer konjesyonu gelişmesine neden olur. Kalp ağırlığında herhangi bir değişiklik olmamasına karşın miyositlerde patolojik değişikliklere (vakuolizasyon, düzensiz miyofibril yerleşimi, nekroz vb.) rastlanır.⁶³ Bu modelin en başlıca avantajı basit, non-invaziv, ekonomik olması ve çabuk gelişmesidir. Ayrıca, adriamisin toksitesinin anlaşılması için de uygun bir modeldir. Fakat kronik hipertrofinin neden olduğu dekompanse kalp yetmezliği mekanizmalarının anlaşılmasına ve önlenmesine yönelik araştırmalar için aynı uygunluk söz konusu değildir.

PULMONER HİPERTANSİYON İÇİN GELİŞTİRİLEN DENEYSEL HAYVAN MODELLERİ

Monokrotalin

Pulmoner damar sisteminin araştırılmasında sıçan ve kobay sıklıkla tercih edilen hayvan türleridir.⁶⁴ Monokrotalin prolizidin alkaloid ailesinden bir bitki toksini olup, pulmoner arterlerde pulmoner hipertansiyon ile sonuçlanan ilerleyici tarzda vasküler hasara neden olmaktadır. Pulmoner hipertansiyon oluşturulacak hayvanlara monokrotalin (60 mg/kg) tek doz intraperitoneal veya deri altına enjekte edilmektedir (300 mg monokrotalin 1.8 mL 1N HCl solüsyonunda çözülerek üzerine 3-4 mL distile su eklenir ve pH 7.4 olacak şekilde 1N NaOH ilave edilerek distile su ile 15 mL'lik hacme tamamlanır).⁶⁵ Yavaş gelişmesi, non-invaziv olması ve hemodinamik olarak sağ ventrikül hipertrofi-

sine neden olan primer pulmoner hipertansiyon ile uyumluluğu nedeniyle en çok tercih edilen pulmoner hipertansiyon modelidir. Sıçan türleri arasında monokrotalin duyarlılığı konusunda belirgin farklılıklar bulunmaktadır.⁶⁶ Çalışmanın ilk günlerinde monokrotalinin sistemik etkilerine bağlı olarak mortalite izlenebilir.

Hipoksi

Sekonder pulmoner hipertansiyon, sıçanların 2 hafta boyunca günde birkaç saat normobarik hipoksiye (O₂ konsantrasyonu %10) maruz bırakılmaları sonucunda oluşturulur.⁶⁷ Hipoksi, sıçanlarda vasküler yapıda önemli değişikliklere neden olmaktadır. Endotel kaynaklı vazokonstriktör maddelerin (endotelin) sentezi artarken nitrik oksit gibi dilatör ajanların sentezi azalmaktadır. Hayvan deneylerinde uygulanan hipoksi, insanlarda hastalığa neden olan hipoksiden çok daha şiddetlidir.⁶⁶ Hem monokrotalin hem de hipoksi uygulaması selektif sağ kalp hipertrofisi gibi kalpte benzer değişikliklere neden olmaktadır. Her iki model de ideal olma kriterlerine uygundur.

SONUÇ

Günümüzde kardiyovasküler hastalıklar, dünyada başlıca ölüm nedenleri arasındadır. İnsanlarda gözlenen kardiyovasküler hastalıkların nedenlerinin, mekanizmalarının ve tedavi yaklaşımlarının araştır-

rılmasında hayvan modellerinin kullanılması oldukça önemlidir. Tıbbın ilerlemesi laboratuvar aşamalarından sonra hayvan ve insan deneyleri de gereklidir. Bununla birlikte deneyler sırasında, etik ilkeler doğrultusunda, sadece insanlar değil deneylerde kullanılan tüm canlıların gönenci gözetilmeli ve bunun için tüm araştırmalar etik kurullar tarafından biyoetik bakış açısıyla dikkatle denetlenmelidir. En sık görülen kardiyovasküler hastalıklar olan hipertansiyon, kalp hipertrofisi ve kalp yetmezliği için çok başarılı hayvan modelleri oluşturulmuş durumdadır. Ancak yine de modelin hastalığa tam anlamıyla benzemesi mümkün değildir. Bu hastalıklarda birçok genetik ve çevresel faktör de etken olduğu için farklı sıçan modellerinin çalışılması uygundur. Hayvan modellerindeki en önemli kısıtlanma noktası insanlarda olduğu gibi hastalığın yavaş gelişmesinin sağlanamamasıdır. Ancak kalp yetmezliği modelleri olan SHR-F ve SHHF sıçanlarında bu sorun da aşılmış gibi gözükmektedir.

Hayvan deneyleri hakkında var olan kişisel görüşler ne olursa olsun bu deneylerin bilime katkılarını inkar etmek olanaksızdır. İlk organ nakli köpeklerde yapılmış, penisilinin ilk etkileri farelerde denenmiştir. Akılda tutulması gereken en önemli nokta, ne kadar çok hayvan deneyi yapılırsa yapılırsa daha sonra denenen ya da denenen yöntemin ilk uygulandığı insanın, asıl denek olmaktan kurtulamayacağıdır.

KAYNAKLAR

1. Pound P, Ebrahim S, Sandercock P, Bracken MB, Roberts I; Reviewing Animal Trials Systematically (RATS) Group. Where is the evidence that animal research benefits humans? *BMJ* 2004;328(7438):514-7.
2. Bader M. Rat models of cardiovascular diseases. In Anegón I, ed. *Rat Genomics: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology. Vol 597, Chapter 27. 1st ed.* New York: Humana Press; 2010. p.403-14.
3. Doggrell SA, Brown L. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovasc Res* 1998;39(1):89-105.
4. Russell JC, Proctor SD. Small animal models of cardiovascular disease: tools for the study of the roles of metabolic syndrome, dyslipidemia, and atherosclerosis. *Cardiovasc Pathol* 2006;15(6): 318-30.
5. Svendsen O. The minipig in toxicology. *Exp Toxicol Pathol* 2006;57(5-6):335-9.
6. Verhamme P, Quarck R, Hao H, Knaapen M, Dymarkowski S, Bernar H, et al. Dietary cholesterol withdrawal reduces vascular inflammation and induces coronary plaque stabilization in miniature pigs. *Cardiovasc Res* 2002;56(1):135-44.
7. Dixon JL, Shen S, Vuchetich JP, Wysocka E, Sun GY, Sturek M. Increased atherosclerosis in diabetic dyslipidemic swine: protection by atorvastatin involves decreased VLDL triglycerides but minimal effects on the lipoprotein profile. *J Lipid Res* 2002;43(10):1618-29.
8. Theilmeyer G, Verhamme P, Dymarkowski S, Beck H, Bernar H, Lox M, et al. Hypercholesterolemia in minipigs impairs left ventricular response to stress: association with decreased coronary flow reserve and reduced capillary density. *Circulation* 2002;106(9):1140-6.
9. Özbağ D, Hatipoğlu ES. [The investigation of relationship between the thickness of myocardial bridge and coronary artery in human, dog, sheep and goat]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2002;22(4):385-9.
10. Kemming G, Messick JB, Mueller W, Enders G, Meisner F, Muenzing S, et al. Can we continue research in splenectomized dogs? *Mycoplasma haemocanis: old problem--new insight.* *Eur Surg Res* 2004;36(4):198-205.
11. Helisch A, Schaper W. Arteriogenesis: the development and growth of collateral arteries. *Microcirculation* 2003;10(1):83-97.
12. Matsunaga T, Warltier DC, Wehrauch DW, Moniz M, Tessmer J, Chilian WM. Ischemia-induced coronary collateral growth is dependent on vascular endothelial growth factor and nitric oxide. *Circulation* 2000;102(25):3098-103.
13. Kondo T, Watanabe Y. A heritable hyperlipemic rabbit. *Jikken Dobutsu* 1975;24(3):89-94.
14. Richardson M, Fletch A, Delaney K, DeReske M, Wilcox LH, Kinlough-Rathbone RL. Increased expression of vascular cell adhesion molecule-1 by the aortic endothelium of rabbits with *Pasteurella multocida* pneumonia. *Lab Anim Sci* 1997;47(1):27-35.

15. Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH. Historical foundations. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, eds. *The Laboratory Rat*. 2nd ed. USA: Elsevier Academic Press; 2006. p.1-53.
16. Schenk J, McNeill JH. The pathogenesis of DOCA-salt hypertension. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1992;27(3):161-70.
17. İlbay G, Dođan A. [Effects of deoxycorticosteron, ouabain and combinations of deoxycorticosteron and ouabain on blood pressure in rats]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2002; 22(5):505-9.
18. de Champlain J, Krakoff LR, Axelrod J. Catecholamine metabolism in experimental hypertension in the rat. *Circ Res* 1967;20(1):136-45.
19. Crofton JT, Share L. Gonadal hormones modulate deoxycorticosterone-salt hypertension in male and female rats. *Hypertension* 1997;29(1 Pt 2):494-9.
20. Garwitz ET, Jones AW. Aldosterone infusion into the rat and dose-dependent changes in blood pressure and arterial ionic transport. *Hypertension* 1982;4(3):374-81.
21. White PC. Inherited forms of mineralocorticoid hypertension. *Hypertension* 1996;28(6):927-36.
22. Pinto YM, Paul M, Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovasc Res* 1998; 39(1):77-88.
23. Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis* 1995;38(2):87-104.
24. Ekerbiçer N, Özbek M. [Local cardiovascular control mechanisms]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2002;22(2):227-32.
25. Johnson RA, Freeman RH. Sustained hypertension in the rat induced by chronic blockade of nitric oxide production. *Am J Hypertens* 1992;5(12 Pt 1):919-20.
26. Ribeiro MO, Antunes E, de Nucci G, Lovisollo SM, Zatz R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension* 1992;20(3):298-303.
27. Richer C, Boulanger H, Es-Slami S, Giudicelli JF. Lack of beneficial effects on the NO-donor, molisodmine, in the L-NAME-induced pre-eclamptic syndrome in pregnant rats. *Br J Pharmacol* 1996;119(8):1642-8.
28. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension.1. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med* 1934;59(3):347-79.
29. Robertson JIS, Nicholls MG. Renin and pathology of renovascular hypertension. *The Renin-Angiotensin System*. 1st ed. St. Louis: Mosby; 1993. p.55.1-55.34.
30. Martínez-Maldonado M. Pathophysiology of renovascular hypertension. *Hypertension* 1991;17(5):707-19.
31. Pickering TG. Renovascular hypertension: etiology and pathophysiology. *Semin Nucl Med* 1989;19(2): 79-88.
32. Dussaule JC, Michel JB, Auzan C, Schwartz K, Corvol P, Menard J. Effect of antihypertensive treatment on the left ventricular isomyosin profile in one-clip, two kidney hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1986;236(2):512-8.
33. Hackam DG, Spence JD, Garg AX, Textor SC. Role of renin-angiotensin system blockade in atherosclerotic renal artery stenosis and renovascular hypertension. *Hypertension* 2007; 50(6):998-1003.
34. Dickinson CJ, Lawrence JR. A slowly developing pressor response to small concentrations of angiotensin. Its bearing on the pathogenesis of chronic renal hypertension. *Lancet* 1963;1(7295): 1354-6.
35. Öztürk O, Öztürk U. [Relation between severity of coronary artery disease and influence of the angiotensin II type-1 receptor gene polymorphisms]. *Turkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci* 2008;20(3):151-6.
36. Baltatu O, Silva JA Jr, Ganten D, Bader M. The brain renin-angiotensin system modulates angiotensin II-induced hypertension and cardiac hypertrophy. *Hypertension* 2000;35(1 Pt 2):409-12.
37. Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 1963;27:282-93.
38. Iams SG, Wexler BC. Inhibition of the development of spontaneous hypertension in SH rats by gonadectomy or estradiol. *J Lab Clin Med* 1979;94 (4):608-16.
39. Smith TL, Hutchins PM. Central hemodynamics in the developmental stage of spontaneous hypertension in the unanesthetized rat. *Hypertension* 1979;1(5):508-17.
40. Lindpaintner K, Kreutz R, Ganten D. Genetic variation in hypertensive and 'control' strains. What are we controlling for anyway? *Hypertension* 1992;19(5):428-30.
41. Folkow B. Early structural changes in hypertension: pathophysiology and clinical consequences. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22(Suppl 1):S1-6.
42. Nigro D, Fortes ZB, Scivoletto R, Barbeiro HV, Carvalho MH. Sex-related differences in the response of spontaneously hypertensive rats to angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Endothelium* 1997;5(1):63-71.
43. Bannister R. Disorders of the cerebral circulation. In: Bannister R, eds. *Brain and Bannister's Clinical Neurology*. 7th ed. Oxford: Oxford Medical Publications; 1992. p. 237-82.
44. Okamoto K, Yamori Y, Nagaoka A. Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Circ Res* 1974;34-35(Suppl I): I143-53.
45. Dahl LK, Heine M, Tassinari L. Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion. *Nature* 1962;194:480-2.
46. Rapp JP. Dahl salt-susceptible and salt-resistant rats. A review. *Hypertension* 1982;4(6): 753-63.
47. Bashyam H, Lewis Dahl and the genetics of salt-induced hypertension. *J Exp Med* 2007; 204(7):1507.
48. Mitchell GF, Pfeffer JM, Pfeffer MA. The transition to failure in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Hypertens* 1997;10(5 Pt 2):120S-126S.
49. Sonoyama K, Ninomiya H, Igawa O, Kaetsu Y, Furuse Y, Hamada T, et al. Inhibition of inward rectifier K⁺ currents by angiotensin II in rat atrial myocytes: lack of effects in cells from spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 2006;29(11):923-34.
50. Anversa P, Capasso JM, Olivetti G, Sonnenblick EH. Cellular basis of ventricular remodeling in hypertensive cardiomyopathy. *Am J Hypertens* 1992;5(10):758-70.
51. Anversa P, Li P, Malhotra A, Zhang X, Herman MV, Capasso JM. Effects of hypertension and coronary constriction on cardiac function, morphology, and contractile proteins in rats. *Am J Physiol* 1993;265(2 Pt 2):H713-24.
52. Tekin İ, Kırış İ, Karahan N, Aktürk O, Delibaş N, Öcal A. [The effect of iloprost on skeleton muscle injury in an experimental model of aortic ischemia-reperfusion]. *Turkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci* 2009;21(2):135-46.
53. Barbosa ME, Alenina N, Bader M. Induction and analysis of cardiac hypertrophy in transgenic animal models. *Methods Mol Med* 2005;112:339-52.
54. Leicht M, Greipel N, Raßler B, Zimmer HG. Catecholamine-induced cardiac hypertrophy in rats is associated with the activation of p70 kinase and c-Jun NH(2)-terminal kinase 2. *Exp Clin Cardiol* 2002;7(2/3):131-137.
55. Zierhut W, Zimmer HG. Significance of myocardial alpha- and beta-adrenoceptors in catecholamine-induced cardiac hypertrophy. *Circ Res* 1989;65(5): 1417-25.
56. Zhang GX, Kimura S, Muraö K, Yu X, Obata K, Matsuyoshi H, et al. Effects of angiotensin type I receptor blockade on the cardiac Raf/MEK/ERK cascade activated via adrenergic receptors. *J Pharmacol Sci* 2010;113(3): 224-33.
57. Cho YK, Eom GH, Kee HJ, Kim HS, Choi WY, Nam KI, et al. Sodium valproate, a histone deacetylase inhibitor, but not captopril, prevents right ventricular hypertrophy in rats. *Circ J* 2010;74(4):760-70.
58. Bing OH, Brooks WW, Robinson KG, Slawsky MT, Hayes JA, Litwin SE, et al. The spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27(1):383-96.
59. Ruben Z, Miller JE, Rohrbacher E, Walsh GM. A potential model for a human disease: spontaneous cardiomyopathy-congestive heart failure in SHR/N-cp rats. *Hum Pathol* 1984; 15(10):902-3.
60. Kolk MV, Meyberg D, Deuse T, Tang-Quan KR, Robbins RC, Reichenspurner H, et al. LAD-ligation: a murine model of myocardial infarction. *J Vis Exp* 2009;(32). pii: 1438. doi: 10.3791/1438.
61. Bralet J, Marie C, Mossat C, Lecomte J-M, Gros C, Schwartz J-C. Effects of alatriprol, a mixed inhibitor of atriopeptidase and angiotensin 1-converting enzyme, on cardiac hypertrophy and hormonal responses in rats with myocardial infarction. Comparison with captopril. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270(1):8-14.
62. Musameh MD, Green CJ, Mann BE, Motterlini R, Fuller BJ. CO liberated from a carbon monoxide-releasing molecule exerts a positive inotropic effect in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *J Cardiovasc Pharmacol* 2010; 55(2):168-75.
63. Ambler GR, Johnston BM, Maxwell L, Gavin JB, Gluckman PD. Improvement of doxorubicin induced cardiomyopathy in rats treated with insulin-like growth factor I. *Cardiovasc Res* 1993;27(7):1368-73.
64. Tasatargil A, Sadan G, Karasu E. Homocysteine-induced changes in vascular reactivity of guinea-pig pulmonary arteries: role of the oxidative stress and poly (ADP-ribose) polymerase activation. *Pulm Pharmacol Ther* 2007;20(3):265-72.
65. Nakazawa H, Hori M, Ozaki H, Karaki H. Mechanisms underlying the impairment of endothelium-dependent relaxation in the pulmonary artery of monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 1999;128(5):1098-104.
66. Campian ME, Hardziyenka M, Michel MC, Tan HL. How valid are animal models to evaluate treatments for pulmonary hypertension? *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2006;373(6):391-400.
67. Stenmark KR, Fagan KA, Frid MG. Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling: cellular and molecular mechanisms. *Circ Res* 2006;99(7):675-91.