

Nitrik Oksit ve Hipertansiyondaki Yeri

NITRIC OXIDE AND ITS ROLE ON HYPERTENSION

Haksun EBİNÇ*, Mustafa CEMRİ**

* Uz.Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD,

** Yrd.Doç.Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD, ANKARA

Özet

Nitrik oksit önemli bir endotel fonksiyonu belirleyicisidir. Son yıllarda hipertansiyonda endotel fonksiyonunun değişikliğe uğradığına dair yayınlar artmıştır. Bu derlemenin amacı, nitrik oksitin fizyolojik etkisi ve onun hipertansiyondaki rolünü literatür bilgileri ışığında gözden geçirmektir.

Aanhtar Kelimeler: Nitrik oksit, Hipertansiyon

T Klin Kardiyoloji 2001, 14:190-195

Summary

Nitric oxide is an important predictor of the endothelial function. Studies regarding to changing endothelial function in hypertension have increased in recent years. The purpose of this review is to summarize the physiologic effect of nitric oxide and its role on hypertension.

Key Words: Nitric oxide, Hypertension

T Klin J Cardiol 2001, 14:190-195

Nitrik oksit endotelden salgılanan gevşeme faktörlerinin en önemlisi olup vasküler tonusun düzenlenmesinde ve damar bütünlüğünün korunmasında hayati bir rol oynar (1-3). Nitrik oksitin (NO) varlığına işaret eden ilk bulgular 1914 yılında Sir Henry Dale tarafından rapor edilmiştir. Araştırmacı intra venöz uyguladığı asetilkolinin (Ach) tavşan kulağında kan akımını arttırdığını göstermiştir. Daha sonraki çalışmalar invitro olarak Ach'nin etkisini göstermeye yönelmiş ancak başarılı bir sonuç alınamamış, çünkü damar invitro koşullarda gevşeme yerine kasılma şeklinde yanıt vermiştir. 1962 de Jelliffe aortun gevşeme ile yanıt verdiğini bildirmiştir. Fuchgott bu konuda çalışmalarını sürdürürken halka şeklinde hazırladığı aort kesitlerinde gevşeme yanıtı alırken, heliks şeklinde hazırlanan preparatlarda kasılma şeklinde yanıt aldığını gözlemiş ve bunu da endotelyumun hasara uğramasına bağlamıştır. Bu nedenle Ach'nin

etkisini endotelden kaynaklanan bir madde aracılığı ile gerçekleştirdiği düşünülmüş, bu maddeye de "Endothelial Derived Relaxing Faktor" (EDRF) adı verilmiştir. Daha sonraki yıllarda EDRF'nin yapısı araştırılmış ve NO ya da benzeri ürünler olduğu 1987'de ortaya çıkarılmıştır. Günümüzde iki molekül aynı anlamda kullanılmaktadır. 1987'den sonra NO üzerine çalışmalar hızla artmış ve organizmadaki önemli rolü nedeni ile NO 1992'de yılın molekülü olarak tanımlanmıştır (4). Bugün miyokard iskemisi, hipertansiyon, ateroskleroz, kronik böbrek yetmezliği, siroz, serebral iskemisi, astım, septik şok gibi birçok konuda NO ile ilgili çalışmalar yapılmış olup etkileri gösterilmiştir (5-9).

Nitrik Oksit yarı esansiyel bir amino asit olan L-argininden, nitrik oksit sentaz enzimi aracılığı ile sentezlenen reaktif bir radikaldir. NO son derece kararsız bir moleküldür. Yarı ömrü 2-10 saniyedir. Sentezlendikten kısa bir süre sonunda nitrat ve nitrite dönüşür.

NO atmosferdede $N_2 + O_2 \rightarrow \rightarrow (1000 \text{ }^\circ\text{C})$ NO formülüne göre de oluşabilmektedir. Havadaki konsantrasyonu süpersonik uçaklar, araba egzoz atıkları ve endüstriyel atıklarla artmaktadır.

Geliş Tarihi: 21.11.2000

Yazışma Adresi: Dr.Mustafa CEMRİ
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kardiyoloji AD, ANKARA

NO süperoksit radikali ile birleşerek peroksinitriti (OONO⁻) oluşturur. Onun protonlanması ile kuvvetli bir oksidan madde olan peroksinitroz asit meydana gelir.

NO L-argininden çeşitli formlardaki nitrik oksit sentaz enzimi (NOS) tarafından oluşturulmaktadır. NOS başlıca iki guruptur: Yapısal (constitutive cNOS) ve uyarılabilen (inducible iNOS). Yapısal NOS başlıca iki grup altında toplanmaktadır. Bunlar endotel kaynaklı olan ecNOS ve daha çok nöronal kaynaklı olan ncNOS. ncNOS beyin, serebellum, nöroblastlarda bulunur ve NO'in nörotransmitter rolünde görev alır. Endotelde yer alan yapısal NOS ecNOS adını almaktadır. Bu form etkisini gösterebilmek için kalsiyum, kalmodulin, NADPH, BTH4 ve diğer elektron donörü kofaktörlere ihtiyaç duymaktadır. ecNOS aktivitesi hücre içindeki kalsiyum miktarı ile kontrol altında tutulmaktadır. Kontrol mekanizmasında Ca⁺², kalmodülin, siklik nükleotitler, inositol trifosfat rol oynamaktadır.

Yapısal NOS formları genel olarak uyarılabilen NOS'a göre daha az miktarda NO üretirler. Uyarılabilen NOS (iNOS) başlıca makrofajlarda bulunmasına rağmen, damar düz kas hücreleri, renal tübül hücreleri, Kupffer hücreleri, endotel hücrelerinde de tespit edilmiştir. NOS'un bu formu etkinleşmek için Ca⁺² ve kalmodüline ihtiyaç duymamaktadır. Esas olarak aktive makrofajlarda bulunan bu form endotoksin, sitokin gibi uyaranlar ile aktive olmakta ve kısa sürede çok miktarda NO salınımına neden olmaktadır. Salınan bu fazla miktardaki NO sitotoksik rol oynayarak immün cevapta yer alır. Makrofajlar dışındaki hücrelerde iNOS aktivitesinin rolü yeterince bilinmemektedir. Ancak endotelde bulunan iNOS konjestif kalp yetmezliği gibi artmış sitokinlerin bulunduğu durumlarda önemli olabilir.

NO sentezi bazı yarışmalı inhibitörler tarafından inhibe edilmektedir. Bunlar: Monometil-L-Arginin (L-NMMA), Asimetrik dimetil-L-arginin (L-ADMA), Nitro-L-Aginin (L-NNA), Nitro-L-arginin metil ester (L-NAME). L-NAME daha çok cNOS için, L-NMMA ise her iki NOS için inhibitördür. L-NNA ise ecNOS ve ncNOS için daha etkilidir.

NO negatif geri besleme sonucu NOS'a ait hem molekülü ile birleşerek NO sentezini inhibe eder.

nNOS ve eNOS, iNOS'dan daha çok bu mekanizmadan etkilenmektedir. NO'nun Hem deki Fe⁺³ formuna inhibitör etkisinin daha fazla olduğu gözlenmektedir. Tetrahidrobiopterin Fe⁺² formu sağlayarak inhibitör etkiyi azaltmaktadır (10,11). Fizyolojik olarak hücrelerin yaptığı NO miktarı, kan akımı artışı ve viskoziteye bağlı olarak artar. Artan makaslama kuvveti (shear stress) mekano-reseptörleri uyarak NO'nun artmasına neden olur.

Nitrik oksitin hipertansiyondaki rolü

NO sentezi inhibitörlerinin intravenöz ya da oral olarak verilmesinin, izole arterlerde endotel bağımlı kontraksiyona (12), kan akımında azalmaya (1), güçlü ve devamlı bir hipertansiyona neden olduğu gösterilmiştir (13).

Hipertansiyonda endotel bağımlı relaksasyon oldukça değişken olup, deneylerde hipertansiyon modeli ve çalışılan vasküler yatağa bağlı olarak farklılık göstermektedir. Sıçanlarda bazı vasküler yataklarda örneğin aorta, mezenterik arterlerde, karotis ve serebral arterlerde endotel bağımlı relaksasyon bozulmuştur (14), bununla beraber renal arterler ve koroner arterlerde endotel fonksiyonu yüksek kan basıncından etkilenmiyor gibi görülmektedir (14,15).

Farmakolojik olarak akut kan basıncında yükselme NO salınımında artmaya neden olurken kan basıncında tekrar düşme olur ise NO sentezinde azalmaktadır. Yüksek kan basıncının NO sentezindeki artışa neden sebep olduğu ve bunun mekanizması halen bilinmemektedir. Ancak kan akımındaki artışın NO salınımına neden olduğu (2) ve endotelial nitrik oksit sentaz enzimine ait mRNA ve proteinlerin mekanik etkilerle indüklenebildiği bilinmektedir (16). Muhtemelen makaslama kuvveti (shear stress), kan basıncının kendisi ve pulzatil gerilim bu fenomene katkıda bulunmaktadır (17).

Yapılan çalışmalarda spontan hipertansif sıçanlarda mezenterik arter cNOS aktivitesi aynı yaştaki normotansif sıçanlara göre daha fazla bulunmuştur (4,14). Benzer olarak spontan hipertansif sıçanlarda NO'nun oksidatif metaboliti olan nitrat seviyeleri ölçülmüş ve aynı yaş grubundaki normotansif sıçanlara göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (14). Bu sonuç, spontan hipertansif sıçanlarda nitrik oksidin bazal salınımının arttığını ve bunun da direkt olarak artan kan basıncına bağlı olduğunu göstermektedir (14).

Bununla beraber NO sentezi hipertansiyonun değişik formlarında farklı biçimlerde etkilenebilir. Tuza duyarlı Dahl sıçanlarında endotelden kaynaklanan vazodilatasyon yanıtı bozulmuştur fakat bu sıçanlar sodyum nitroprusside (NO donörü olarak) duyarlı değildirler. Aynı zamanda tuza duyarlı hipertansiyonlu sıçanlarda, spontan hipertansif sıçanlarda tespit edilen artmış vazokonstriktör prostenoid salınımı gösterilememiştir. Bu sonuç, bu hipertansiyon modelinde azalmış NO sentezinin rolü olduğunu düşündürmektedir.

İnsanlarda yapılan çalışmalarda hipertansif hastalarda uyarılmış ve bazal NO üretiminin azalmış olduğu gösterilmiştir.

İnsanlarda pekçok deneysel modelde hipertansif hastalarda endotel fonksiyonunun bozulduğu gösterilmiştir. Bu hipertansif hastalarda NO yolağı, daha çok, ön kol vasküler yatağına asetilkolin infüzyonu uygulanarak araştırılmıştır. Pek çok çalışmada primer ve sekonder hipertansif hastalarda asetilkolin infüzyonuna bozulmuş yanıt olduğu bulunmuşsa da bu mutlak bir bulgu değildir (18-20). Önkola asetilkolin infüzyonuna karşı olan yanıt NO sentezinin kompetitif bir inhibitörü olan L-NMMA tarafından %50 kadar inhibe edilmektedir. Bu sonuç insanlarda asetilkolin yanıtının NO'dan bağımsız başka faktörler tarafından da etkilendiğini düşündürmektedir.

Buna rağmen eldeki kanıtlar, esansiyel hipertansif hastalarda, önkolda NO'in aracılık ettiği vazodilatasyonun etkilendiğini kuvvetle düşündürmektedir. Bu duruma, teorik olarak, azalmış arginin sunumu, NO sentaz aktivitesinin azalması, NO yıkımının artması, damar düzkasının NO'ya duyarlılığının azalması gibi faktörler katkıda bulunuyor olabilirler. NO sentezinin artmış olması ancak vasküler düz kasa ulaşan aktif NO miktarında düşme de söz konusu olabilir. Sebep ne olursa olsun, vasküler L-arginin-NO yolağındaki bozulmanın, hipertansiyonun primer sebebi olduğu düşünülmemektedir. Kan basıncı ile NO'nun aracılık ettiği vazodilatasyon arasında ters bir orantı olması ile ilgili gözlemler, bu durumun daha çok hipertansiyona karşı vücudun adaptif bir mekanizması olduğu ve yüksek kan basıncının NO sentezinde down regülasyona neden olduğu izlenimini vermektedir. Antihipertansif tedavi ile L-NMMA infüzyonuna önkoldaki vazodilatasyon yanıtının

düzelmesi de bu düşüncüyü desteklemektedir (21,22).

Organizmada NO L-argininden sentezlenmektedir. Bu nedenle organizmadaki L-arginin düzeylerinin hipertansiyon ve endotel fonksiyonlarında etkisi olabilir. Plazmadaki normal L-arginin yaklaşık 100 mM düzeyinde bulunmaktadır. Endotel hücrelerinde ise yaklaşık 1mM seviyesindedir (23). Bu değerler L-argininin NOS izoformlarına olan Km değerinden (1.5-2.9 mM) çok fazla seviyelerdir. Bu nedenle in vivo endotelial NOS'un L-arginin ile tam satüre olduğu düşünülmektedir. İnsanlarda yapılan çalışmalarda L-argininin vasküler tonusa ve kan basıncına etkileri konusunda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. L-arginin sistematik infüzyonunun kan basıncında düşmeye ve plazma cGMP düzeylerinde artmaya neden olduğu gösterilmiş (24-26); ancak başka çalışmalarda bu etki gösterilememiştir (27,28). Benzer olarak, önkol arteriyel yatağında sağlıklı bireylerde L-arginin uygulanmasının, asetilkolin infüzyonuna karşı cevabında artışa neden olduğu gösterilmiş. Ancak bu bulgu tüm çalışmalarda tespit edilememiştir (29,30). Bu bulgular L-arginin akut ve kronik verilmesinin etkileri konusunda daha fazla kontrollü çalışma yapılması gerektiğini göstermektedir.

Böbrekler hipertansiyon patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle NO'in böbrek fonksiyonları ve böbrek hastalıkları ile ilişkisinin değerlendirilmesi önemlidir. Böbrekler NO'e karşı çok duyarlıdır. Kan basıncında değişikliğe neden olmayan çok düşük dozlardaki L-arginin analogu verilmesi bile böbrek kan akımında, natriürezde ve diürezde azalmaya neden olabilmektedir (31). Bu nedenle endotel kaynaklı relaksasyonu etkilemeyen NO değişimlerinin sıvı-elektrolit seviyelerinde değişmelere neden olarak hipertansiyona katkıda bulunması muhtemeldir.

Böbrek yetmezliği olan hastalarda idrarla atılan guanidino bileşikler azalmakta ve plazmada birikmektedir. Bunlardan özellikle ikisi, metilguanidin ve ADMA, NO sentaz inhibitörleridir. Bu bileşikler kanda vasküler tonusu etkileyebilecek seviyelere erişebilmektedirler. Böylelikle volüm artışına karşı gelişen vazodilatör yanıt bozulmakta, sonuçta hipertansiyon alevlenmektedir (32).

Böbrek yetmezliğinde NO'in fazla üretiminin

trombosit fonksiyon bozukluklarını açıklayan bir mekanizma olduğu ileri sürülmüştür. Sıçanlarda subtotal nefrektomi sonrası NOS inhibitörü olan L-NMMA infüzyonunun , trombosit adezyonunu ve kanama zamanını düzelttiği gösterilmiştir. Diyalize bağımlı hastalarda bozulmuş platelet agregasyonu, trombositlerde L-arginin sitrüline dönüşümünde artma ve cGMP düzeyinde artma saptanmıştır.

Antihipertansif ilaçların NO ve endotel fonksiyonlarına olan etkileri:

İlaçlar değişik yollardan endotelial mediyatörleri etkileyerek endotel disfonksiyonunda düzelmeye neden olabilirler. Çeşitli ilaçların rezistans ve geniş arterlerde endotel bağımlı relaksasyonu koruduğu hipertansif sıçanlarda gösterilmiştir (33,34). Diüretikler, kalsiyum kanal blokerleri, ACE inhibitörleri, anjiyotensi II reseptör antagonistlerinin hipertansif sıçanlarda endotel disfonksiyonunu düzelttikleri (ya da normalize ettikleri) gösterilmiştir. Bu etkileri ilaçların tansiyon düşürücü özelliklerine bağlı olabilir. Bununla beraber değişik ilaçların kan basıncından bağımsız etkilerinin de olması olasıdır.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) başlıca endotel hücresi duvarında bulunmaktadır. ACE anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye dönüştürür, bradikininin yıkılmasını sağlar, ayrıca L-arginin ve siklooksijenaz yollarının potent bir uyarıcısıdır (35). Bu nedenle ACE inhibitörleri proliferatif özellikleri bulunan potent vazokonstriktörün üretilmesini önlemekle kalmayıp aynı zamanda bradikininin lokal konsantrasyonunun artmasına, NO ve prostasiklin üretiminde artmaya neden olmaktadır (36). Bu nedenle önceden ACE inhibitörleri ile muamele edilmiş insan safen ven ve koroner arterlerinin bradikinin ile endotel bağımlı gevşemesi artmaktadır (37).

ACE inhibitörlerinin antihipertansif etkileri dışında da endotel disfonksiyonunu düzelttikleri hakkında yayınlar giderek artmaktadır. Bu çalışmalardan biri olan TREND (Trial on Reversing Endotelial Dysfunction) çalışmasında; koroner arter hastalarında koroner damarların endotel bağımlı ve endotel bağımsız dilatatör ajanlara karşı cevabı araştırılmıştır. Sonucu değiştirebilecek etkileri dışlamak amacı ile sadece normotansif ya da hipertansiyonu kontrol altına alınmış, önemli hiperlipidemisi ve kalp yetmezliği olmayan olgular kul-

lanılmış. Altı ay quinapril tedavisi sonrası olgular da asetilkoline karşı vasküler yanıtın (geniş koroner arterlerde) plaseboya göre artmış olduğu gösterilmiştir (38). Bu sonuç, quinapril tedavisi ile elde edilen endotel fonksiyonlarındaki düzelmeye hipertansiyonun belirleyici olmadığını düşündürmektedir. "QUIET" çalışmasında ise 3 yıllık quinapril tedavisinin başlangıçta LDL-kolesterolü yüksek olan vakalarda plaseboya göre aterosklerozun ilerlemesine engel olduğu gösterilmiştir (39).

Son zamanlarda yayınlanan HOPE (The Heart Outcomes Prevention Evaluation) çalışmasında 55 yaş üzerindeki yüksek risk altındaki (vasküler hastalık hikayesi olan ya da diyabet ile birlikte birden fazla risk faktörü olan ancak kalp yetmezliği ve düşük ejeksiyon fraksiyonu olmayan) olgularda ramipril tedavisinin mortalite ve morbiditeye etkisi araştırılmış. Ramipril tedavisi ile kardiyovasküler sebeplerden ölüm, miyokard infarktüsü, kardiyovasküler girişim ihtiyacı, kardiyak arrest, diyabet komplikasyonları açısından plaseboya göre anlamlı azalma saptanmıştır (40).

ACE inhibitörleri ile yapılan pekçok çalışma vardır. Genel olarak bu çalışmalardan çıkarılabilecek sonuç bu ilaçların antihipertansif etkileri dışında da endotel fonksiyonlarını düzeltten ve kalp koruyucu fonksiyonlarının da bulunduğudır.

Son zamanlarda geliştirilen anjiyotensin II reseptör antagonistleri bazı avantajlara sahiptirler. Bu ilaçlar sadece AT₁ reseptörlerini bloke ederler ancak anjiyotensinin antiproliferatif etkilerinden sorumlu olduğu düşünülen AT₂ reseptörlerini etkilemezler (41). ACE inhibitörlerinin bradikininin yıkılımlında azalmaya bağlı olduğu düşünülen öksürük yan etkisi varken bu yeni ilaçların öksürüğe yol açan belirgin etkisi yoktur. Bununla beraber L-arginin-NO yolağının bradikininle beraber uyarılması ACE inhibitörlerinin önemli bir özelliği olabilir ve AT II reseptör antagonistleri bu yararlı etkiden yoksun olabilirler.

Son zamanlarda bazı yayınlarda bu ilaçların AT₁ reseptörleri bloke olduğunda etkileri belirgin hale gelen AT₂ reseptörleri aracılığı ile olumlu etkilerinin olabileceği belirtilmektedir. AT₂ reseptörlerinin rolü yeterince bilinmemektedir, ancak genel olarak AT₁ reseptörlerine antagonist etkilerinin olduğu düşünülmektedir. AT₂ reseptörleri anjiyotensin II'nin AT₁ reseptörleri aracılığı ile oluştur-

duğu kontraksiyonu azaltmakta, NO sentezini artırarak natriüresi arttırıcı rol oynamaktadırlar (42). Genetik olarak AT₂ reseptörü olmayan farelerde yapılan çalışmalarda, bu farelerin kan basınçlarının hafifçe daha yüksek, plazma bradikinin ve cGMP (NO düzeylerinin göstergesi olarak) düzeylerinin düşük ve üriner sodyum atılımlarının düşük olduğu gösterilmiştir (43). Bu farelerin anjiyotensin II'ye karşı renal ve vasküler duyarlılıkları artmıştır. Bu sonuç AT₂ reseptörlerinin anjiyotensin II'nin antinatriüretik ve kan basıncında artışa neden olan etkilerine karşı koruyucu ve düzenleyici rolü olduğu ve bu etkilerini bradikinin ve NO aracılığı ile gösterdiğini düşündürmektedir.

AT II reseptör antagonistlerinin endotel disfonksiyonundaki rolü yeterince bilinmemektedir, ancak daha önce bahsedildiği gibi AT₂ reseptörleri aracılığı ile olumlu özellikleri bulunabilir (44,45). Bir çalışmada losartanın sıçan aortasında fenilefrine karşı vazokonstriksiyon yanıtında azalmaya neden olduğu gösterilmiş, ancak bu etki beraberinde AT₂ reseptör antagonisti verilen deneklerde gösterilememiştir. Benzer sonuçlar endoteli soyulmuş ya da NO sentez inhibitörü ile hazırlanmış deneklerde de elde edilmiştir (46). Bu çalışmada losartan Ach ya da nitropurissite karşı gevşeme yanıtında değişikliğe neden olmamıştır. Sonuç olarak losartanın fenilefrinin neden olduğu vazokonstriksiyonu AT₂ reseptörleri ve NO aracılığı ile azalttığı düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

- Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989; ii: 997-1000.
- Joannides R, Richard R, Haefeli WE, Linder L, Lüscher TF, Thuillez C. Role of basal and stimulated release of nitric oxide in the regulation of radial artery caliber in humans. *Hypertension* 1995; 26: 327-31.
- Jones LF, Brody MJ. Coronary blood flow in rats is dependent on the release of vascular nitric oxide. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260: 627-31.
- Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide: *British J Surg* 1995; 82: 1598-610.
- Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, Just H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *Lancet* 1991; 338: 1546-50.
- Hamid Q, Springall DR, Moreno VR, Chanez P, Howarth P, Redington A, Bousquet J, Godard P, Holgate S, Polak JM. Induction of nitric oxide synthase in asthma. *Lancet* 1993; 342: 1510-3.
- Huang Z, Huang PL, Panahian N, Dalkara T, Fishman MC, Moskowitz MA. Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase. *Science* 1994; 265: 1883-5.
- Kader A, Frazzini VI, Solomon RA, Trifiletti RR. Nitric oxide production during focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 1993; 24: 1709-16.
- Valance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-5.
- Ignarro LJ. Physiology and pathophysiology of nitric oxide. *Kidney International* 1996; 49 (suppl 55): S2-S5.
- Baron AD. The coupling of glucose metabolism and perfusion in human skeletal muscle. The potential role of endothelium-derived nitric oxide. *Diabetes* 1996; 45 (suppl 1): pS 105-9.
- Tschudi MR, Criscione L, Novosel D, Pfeifer K, Lüscher TF. Antihypertensive therapy augments endothelium-dependent relaxations in coronary arteries of spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 1994; 89: 2212-8.
- Moreau P, d'Uscio LV, Shaw S, Takase H, Barton M, Lüscher TF. Angiotensin II increases tissue endothelin and induces vascular hypertrophy reversal by ET(A)-receptor antagonist. *Circulation* 1997; 96: 1593-7.
- Lüscher TF, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 1986; 8: 344-8.
- Tschudi M, Richard V, Bühler FR, Lüscher TF. Importance of endothelium-derived nitric oxide in porcine coronary resistance arteries. *Am J Physiol* 1991; 260: H113-H120.
- Sessa WC, Prithchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res* 1994; 74: 349-53.
- Hishikawa K, Lüscher TF. Pulsatile stretch stimulates superoxide production in human aortic endothelial cells. *Circulation* 1997; 96: 3610-6.
- Panza JA, Quyyumi AA, Brush JJ, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 22-7.
- Taddei S, Virdis A, Mattei P, Salvetti A. Vasodilation to acetylcholine in primary and secondary forms of hypertension. *Hypertension* 1993; 21: 929-33.
- Cockcroft JR, Cheowienzyk PJ, Benjamin N, Ritter JM. Preserved endothelium-dependent vasodilatation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1994; 330: 1036-40.
- Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA. Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation* 1993; 87: 1468-74.
- Lyons D, Webster J, Finchman N, Benjamin N. The effect of antihypertensive therapy on local intra-arterial NG-

- monomethyl-L-arginine in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 1994; 12: 1047-52.
23. Baydoun AR, Emery PW, Pearson JD, Mann GE. Substrate-dependent regulation of intracellular amino acid concentrations in cultured bovine aortic endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 173: 940-8.
24. Kanno K, Hirata Y, Emori T, et. al. L-arginine infusion induces hypotension and diuresis/natriuresis with concomitant increased urinary excretion of nitrite/nitrate and cyclic GMP in humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1992; 19: 619-25.
25. Ebel M, Catapano M, Colombo G, et.al. The Humoral, renal and pressor effects of systemic L-arginine infusion in hypertensive patients. *J Hypertens* 1993; 11: S140-S141.
26. Woods LL. Mechanisms of renal hemodynamic regulation in response to protein feeding. *Kidney Int* 1993; 44: 659-75.
27. Baudouin SV, Bath P, Martin JF, Du Bois R, Evans TW. L-arginine infusion has no effect on systemic haemodynamics in normal volunteers, or systemic and pulmonary haemodynamics in patients with elevated pulmonary vascular resistance. *Br J Clin Pharmacol* 1993; 36: 45-9.
28. Creager MA, Gallagher SJ, Girerd XJ, Coleman SM, Dzau VJ, Cooke JP. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1992; 90: 1248-53.
29. Imaizumi T, Hirooka Y, Masaki H, et. al. Effects of L-arginine on forearm vessels and responses to acetylcholine. *Hypertension* 1992; 20:511-7.
30. Schmith HH, Baeblich SE, Zernikow BC, Klein MM, Bohma E. L-arginine and arginine analogues: effects on isolated blood vessels and cultured endothelial cells. *Br J Pharmacol* 1990; 101: 145-51.
31. Lahera V, Salom MG, Miranda Guardiola F, Moncada S, Romero JC. Effects of NG-nitro-L-arginine methyl ester on renal function and blood pressure. *Am J Physiol* 1991; 261: 1033-7.
32. MacAllister R, Vallance. Nitric oxide in essential and renal hypertension. *J Am Soc Nephrol* 1994; 5: 1057-65.
33. Lüscher TF, Vanhoutte FM, Raji L. Antihypertensive treatment normalizes decreased endothelium-dependent relaxations in rats with salt-induced hypertension. *Hypertension* 1987; 9 (suppl III): 193-7.
34. Mimran A, Ribstein J, DuCailar G. Contrasting effect of antihypertensive treatment on the renal response to L-arginine. *Hypertension* 1995; 26: 937-41.
35. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333: 664-6.
36. Wiemer G, Scholkens BA, Becker RH, Busse R. Ramiprilat enhances endothelial autocoid formation by inhibiting breakdown of endothelium-derived bradykinin. *Hypertension* 1991; 18: 558-63.
37. Yang Z, Arnet U, Von Segesser L, Slebenmann R, Turina M, Lüscher TF. Different effects of angiotensin-converting enzyme inhibition in human arteries and veins. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22: S17-S22.
38. Mancini GBJ, Henry GC, Macaya C et. al. Angiotensin converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease: The TREND (Trial on Reversing Endothelial Dysfunction) Study. *Am J Cardiol* 1997; 80: 1594-7.
39. Cashin-Hemphill L, Dinsmore R E, Chan R C et. Al. For the QUIET Investigators. LDL cholesterol and angiographic progression in the QUIET trial. (Abstr) *J Am Coll Cardiol* 1997; 29 (Suppl A): 85A.
40. The heart outcomes prevention study investigators. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. *New Eng J Med* 2000 Jan; vol:342:145-53.
41. Timmermanns PBMWM, Benfield P, Chiu AT, Herplin WF, Wong PC, Smith RD. Angiotensin II receptors and functional correlates. *Am J Hypertens* 1992; 5: 221S-235S.
42. Inagami T, Kambayashi Y, Ichiki T, Tsuzuki S, Eguchi S, Yamakawa T. Angiotensin receptors: molecular biology and signalling. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999; 26(7):544-9.
43. Siragy HM, Inagami T, Ichiki T, Carey RM. Sustained hypersensitivity to angiotensin II and its mechanism in mice lacking the subtype-2 (AT2) angiotensin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 25;96(11):6506-10.
44. White M. Cardioprotective effect of angiotensin II receptor antagonists. *Can J Cardiol* 1999;15 Suppl F:10F-4F.
45. Horning B, Landmesser U, Kohler C, Ahlersmann D, Spiekermann S, Christoph A, Tatge H, Drexler H. Comparative effect of ACE inhibition and angiotensin II type 1 receptor antagonism on bioavailability of nitric oxide in patients with coronary artery disease: Role of superoxide dismutase. *Circulation* 2001;103:799-805.
46. Maeso R, Navarro-Cid J, Munoz-Garcia R, Rodrigo E, Ruilope LM, Lahera V, Cachofeiro V. Losartan reduces phenylephrine constrictor response in aortic rings from spontaneously hypertensive rats. Role of nitric oxide and angiotensin II type 2 receptors. *Hypertension* 1996; 28(6):967-72.