



Özgün Araştırma / Original Article

Deneysel Hipertansiyon Modelinde Farklı DOCA-tuz Uygulama Sürelerinin Kan Basıncı ve Damar Cevapları Üzerine Etkisi

Sevta Han¹, Mecit Orhan Uludağ², Emine Demirel Yılmaz³

1 Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Etiler, 06330 Ankara, Türkiye ORCID: 0000-0001-6392-097X

2 Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Etiler, 06330 Ankara, Türkiye ORCID: 0000-0001-9837-1317

3 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Sıhhiye, 06100 Ankara, Türkiye ORCID: 0000-0002-2476-6225

Geliş: 12.06.2019; Revizyon: 11.07.2019; Kabul Tarihi: 29.07.2019

Öz

Amaç: Hipertansiyon, gelişiminde pek çok faktörün etkili olması nedeniyle araştırılması zor bir hastalıktır. Deoksikortikosteron asetat (DOCA)-tuz hipertansiyon modeli, oldukça sık kullanılan ve insanlardaki esansiyel hipertansiyonu başarılı bir şekilde taklit edebilen bir deneysel modeldir. Hipertansiyon çalışmalarında, hayvan modelinin seçimi kadar seçilen modelinin ne kadar süreyle uygulanacağı da büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, DOCA-tuz hipertansiyon modelinin farklı sürelerde uygulanmasının, kan basıncı ve damar cevapları üzerine etkileri araştırılmıştır.

Yöntemler: Deneysel 8 haftalık, erkek Wistar albino sıçanlar kullanılmıştır. DOCA-tuz hipertansiyon modelini oluşturmak için, hayvanlara tek taraflı nefrektomi uygulanmış ardından haftada iki kez DOCA enjeksiyonu (15 mg/kg, s.c.) yapılmış ve %1 NaCl ile %0,2 KCl içeren içme suyu verilmiştir. Uygulamalara farklı hayvan gruplarına 4 hafta ve 8 hafta boyunca devam edilmiş ve kan basınçları ölçülmüştür. Süre sonunda, hayvanların torasik aortları izole edilmiş ve damar cevapları izole organ banyosunda kaydedilmiştir.

Bulgular: 4 veya 8 hafta DOCA-tuz uygulaması, hayvanların kan basıncını yükseltmiş ve aortanın endotele bağımlı gevşeme cevaplarını azaltmıştır. 4 haftalık DOCA-tuz grubunda aortun KCl kasılma cevapları değişmezken, alfa-1 reseptör agonisti fenilefrin (FE) ile uyarılan kasılma cevapları azalmıştır. 8 haftalık DOCA-tuz grubunda ise, hem KCl hem de FE ile oluşan damar kasılmaları azalmıştır.

Sonuç: DOCA-tuz hipertansiyon modelinin erken döneminde, endotel işlevinde ve reseptör aracılı damar kasılmalarında bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Daha uzun süreli uygulama sonucunda ise, kan basıncı daha fazla yükselmekte, hem endotel hem de damar düz kasının işlevlerinde bozukluklar görülmektedir. Elde edilen sonuçlar, deneysel hipertansiyon modelinde farklı DOCA-tuz uygulama sürelerinin, damarların işlevleri üzerine farklı etkileri olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: hipertansiyon, DOCA-tuz, kan basıncı, endotel.

DOI: 10.5798/dicletip.661263

Yazışma Adresi / Correspondence: Sevta Han, Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Etiler, 06330 Ankara, Türkiye
e-mail: sevta.han@gazi.edu.tr

The Effect of Different Application Periods of DOCA-salt on Blood Pressure and Vascular Response in the Experimental Model of Hypertension

Abstract

Objective: Hypertension is a difficult disease to study because of the many factors involved in its development. The deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt hypertension model is a frequently used experimental model and mimics essential hypertension in humans. In hypertension studies, it is of great importance to choose how long the model will be applied as well as the selection of the animal model. In this study, it was investigated whether the administration of DOCA-salt hypertension model at different times would have different effects on blood pressure and vessel responses.

Method: 8-week-old male Wistar albino rats were used in the experiments. DOCA-salt hypertension model was induced through unilateral nephrectomy, DOCA injection (15 mg/kg, s.c.) twice a week and 1% NaCl and 0.2% KCl added to drinking water. The applications were performed for 4 weeks or 8 weeks in different animal groups and blood pressures were measured. At the end of the period, thoracic aortas of the animals were isolated and the vessel responses were recorded in the isolated tissue bath.

Results: 4 or 8 weeks DOCA-salt administration resulted in a significant increase in blood pressure and a reduction in endothelium-dependent relaxation responses. In the 4-week DOCA-salt group, KCl-induced contractile responses remained unchanged, whereas the alpha-1 receptor agonist phenylephrine (FE)-induced contractile responses were decreased. In the 8-week DOCA-salt group, both contractile contractions with KCl and FE were reduced.

Conclusion: DOCA-salt hypertension model leads to endothelial dysfunction and impaired receptor-mediated smooth muscle contractions in the early-stage. The longer-term administration results in higher blood pressure and both endothelial and vascular smooth muscle dysfunction. These findings suggest that different DOCA-salt application times may have different effects on smooth muscle functions in experimental hypertension model.

Keywords: hypertension, DOCA-salt, blood pressure, endothelium.

GİRİŞ

Dünyadaki en yaygın kronik hastalıklardan biri olan hipertansiyon, oldukça karmaşık bir patogeneze sahiptir¹. Bu nedenle, ayrı ayrı organları veya dokuları hedef alan yaklaşımlar ve modeller kullanılarak incelenmiştir. Spontan hipertansif sıçan (SHR) modeli gibi genetik modellerden, DOCA-tuz modeli gibi uygulamalı modellere kadar pek çok deneysel hayvan modeli, hipertansiyon araştırmalarında kullanılmaktadır^{2,3}. Deneysel hayvan modellerine, hipertansiyonun patogenezinin aydınlatılması ve yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesi açısından ihtiyaç duyulmaktadır.

Tüm hipertansiyon vakalarının yaklaşık %95'ini esansiyel hipertansiyon oluşturmaktadır⁴. Esansiyel hipertansiyon, renovasküler hastalık, böbrek yetmezliği, feokromositoma, aldosteronizm veya diğer ikincil nedenlerin bulunmadığı durumlarda

gözlenen yüksek kan basıncı olarak tanımlanmaktadır⁴. Esansiyel hipertansiyonun etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, birçok çalışmada bu hastalığın sempatik sinir sisteminin fazla aktivasyonu ve renin-anjiyotensin sistemi bozukluğundan kaynaklandığı öne sürülmüştür^{2,5,6}. DOCA-tuz hipertansiyon modelinin oluşumunda bu iki yolağın da önemli rolü vardır. Takeda ve ark. tarafından, DOCA-tuz uygulanan sıçanlarda kan basıncı artışından önce, merkezi kan basıncı regülasyonunun değiştiği ve baroreflekslerin azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca bu araştırmalar, sempatik sinir aktivitesindeki aşırı artışın hipertansiyon patogenezinde önemli rol oynadığını gösteren ilk çalışmalar arasında yerini almıştır⁷⁻⁹. Diğer taraftan, DOCA uygulamasının plazma renin ve anjiyotensin II seviyelerini azaltırken, beyin omurilik sıvısındaki anjiyotensinojen ve anjiyotensin II miktarlarını artırdığı belirtilmiştir¹⁰. DOCA-tuz

uygulanmasıyla birlikte, hipotalamusta renin-anjiyotensin sistemi aktive olmaktadır¹¹. Öte yandan, DOCA hem glukokortikoid hem de mineralokortikoid özelliklerine sahiptir. Bununla birlikte, daha baskın olan mineralokortikoid potansiyeli aldosterona göre zayıftır. DOCA-tuz hipertansiyon modeli, hem su-tuz dengesini bozarak ortaya çıkan hipervolemiye ve hem de sistemik mineralokortikoid reseptörlerin uyarılmasına bağlı olarak, kan basıncında yükselmeye ve dolaşım sisteminin yeniden şekillenmesine (remodelling) yol açmaktadır^{2,3}. Dolayısıyla, DOCA-tuz modeli esansiyel hipertansiyonu iyi bir şekilde taklit ederek, ana yolların incelenmesine olanak sağlamaktadır.

Böbrek kitlesinin azaltılması, tuz alımının artışı ve DOCA kombinasyonu, uygulamanın ilk haftasından itibaren kan basıncında yükselişe neden olmaktadır¹²⁻¹⁴. DOCA-tuz uygulamasını 3 haftadan daha uzun süre yapan az sayıda çalışma olduğu ve bir aydan daha uzun süreli uygulamalarda kan basıncı değerlerinde farklı sonuçların ortaya çıktığı öne sürülmüştür². Bu çalışmada, DOCA-tuz modelinin kısa ve uzun süreli uygulanması sonucu kan basıncındaki ve damar cevaplarındaki değişimlerin izlenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Hayvanların bakımı ve DOCA-tuz hipertansiyon modelinin uygulanması

Tüm deneyler, Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı ile ilgili Ulusal Sağlık Enstitüsü Kılavuzuna uygun olarak yapılmıştır. Deney protokolü, Gazi Üniversitesi Hayvan Etiği Komitesi tarafından onaylanmış, etik kurul onayı alınmıştır (G.Ü.ET.0952).

Sekiz haftalık erkek Wistar albino sıçanlar (230±20 g), Ankara Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Servisi'nden alınmıştır. Tüm hayvanlar sabit sıcaklıkta (24±1°C), 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık periyodunda tutulmuştur. Sıçanlar rastgele dört gruba

ayrılmıştır: i) 4 hafta Kontrol (n=10), ii) 4 hafta DOCA-tuz (n=10), iii) 8 hafta Kontrol (n=8), iv) 8 hafta DOCA-tuz (n=11).

DOCA-tuz gruplarındaki hayvanlara steril koşullarda, anestezi altında (60mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin) tek taraflı nefrektomi uygulanmıştır. Bu sıçanların bir hafta boyunca iyileşmesine izin verilmiştir. İyileşme süresinden sonra haftada iki kez 15 mg/kg dozunda subkütan DOCA uygulanmış ve içme sularına %1 NaCl ve %0,2 KCl eklenmiştir¹⁴. DOCA enjeksiyonu ve tuzlu içme suyu uygulamaları 4 ya da 8 hafta boyunca yapılmıştır. Hayvanlara sürekli olarak tuzlu içme suyu verilmiştir. DOCA enjeksiyonu ise haftada iki gün uygulanmıştır^{14,15}.

Kan basıncı ölçümü

Hayvanların sistolik kan basınçları iki haftada bir "Tailcuff" yöntemiyle ölçülmüştür (Non-invasiv kan basıncı ölçüm sistemi, NIBP200A, COMMAT (BIOPAC), Türkiye). Sıçanlar ölçümden önce ısıtılarak, ölçüm kutularına alınmış ve kan basınçları kuyruklarından ölçülmüştür. Her ölçüm zamanında, her sıçan için en az beş ölçüm yapılmış ve ortalama değerler sistolik kan basıncı olarak alınmıştır^{12, 13}.

İzole organ banyosu deneyleri

Deney süresi sonunda hayvanlar anesteziye edilmiş ve torasik aortları dikkatli bir şekilde çıkarılmıştır. Torasik aortlar etraf dokulardan temizlendikten sonra yaklaşık 3 mm'lik halkalara ayrılmış ve izole organ banyosuna yerleştirilmiştir (COMMAT, Ankara, Türkiye). İzole organ banyoları Krebs çözeltisi ile doldurulmuş (mM: NaCl 119; NaHCO₃ 25; KCl 4,6; MgCl₂ 1,2; KH₂PO₄ 1,2; CaCl₂ 2; H₂O 2,5; monohidratglukoz 11), %95 O₂ ve %5 CO₂ karışımıyla sürekli olarak havalandırılmış ve 37°C'ye ısıtılmıştır. Yaklaşık bir saat dengeleme süresinin ardından, 90 mM KCl ile kasılma cevapları alınmıştır. 40 dakika yıkama sonrası, damar halkaları fenilefrin (FE) (10⁻⁶ M) ile

kasılmış ve asetilkolin (ACh) (10^{-8} – 10^{-5} M) ile gevşeme doz-cevap eğrileri kaydedilmiştir¹².

Kimyasallar

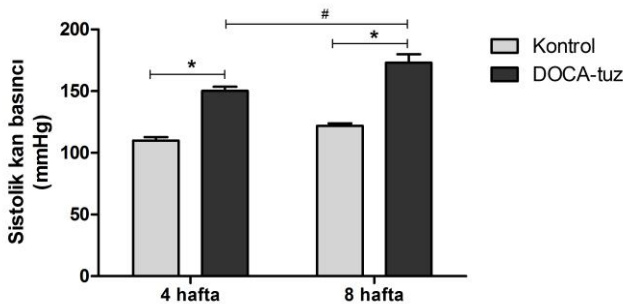
Tüm kimyasallar Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA) şirketinden alınmıştır. DOCA, mısır yağı içerisinde, 15 mg/ml derişimde hazırlanarak uygulanmıştır.

İstatistiksel analiz

Tüm sonuçlar ortalama \pm standart hata (SEM) şeklinde gösterilmiştir. Damar gevşeme cevapları, FE kasılma cevabının yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Kan basıncı sonuçlarının ve damar kasılma cevaplarının istatistiksel analizinde Student t testi kullanılmıştır. Damar gevşeme cevaplarında ise gruplar arası farklılık, "Repeated-measures Two-way ANOVA" ve ardından Bonferroni testi yapılarak tespit edilmiştir. $P < 0,05$ seviyesi anlamlı kabul edilmiştir.

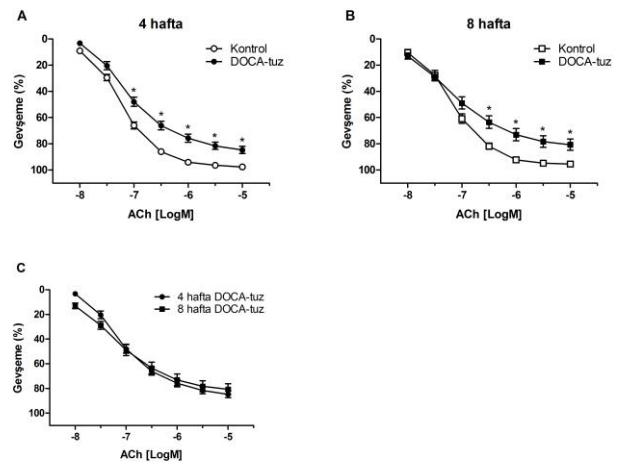
BULGULAR

Hem 4 hafta hem de 8 hafta boyunca DOCA-tuz uygulaması yapılan gruplarda sistolik kan basınçları kontrole göre anlamlı olarak artmıştır ($p < 0,0001$). Ayrıca 8 hafta DOCA-tuz uygulanan gruptaki hayvanların kan basınçları, 4 hafta DOCA-tuz uygulanan gruptaki hayvanlarda daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 1).



Şekil 1. Farklı DOCA-tuz uygulama sürelerinin sistolik kan basıncı üzerine etkisi. 8 hafta uygulama sonucu elde edilen sistolik kan basıncı artışı, 4 haftaya kıyasla daha fazla olmuştur. Sonuçlar ortalama \pm SEM şeklinde gösterilmiştir. * $p < 0,0001$ # $p < 0,05$ (n=8-11)

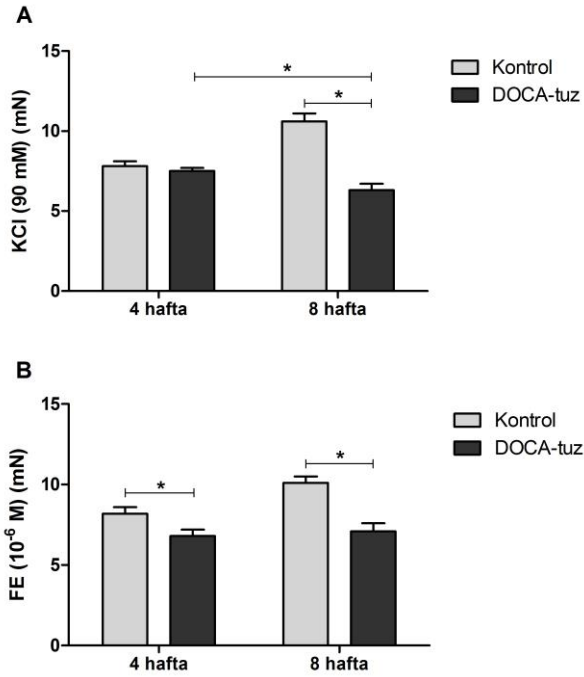
4 haftalık DOCA-tuz grubunda kaydedilen ACh ile uyarılan endotele bağımlı gevşeme cevaplarının kontrole göre anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur (Şekil 2A) ($p < 0,05$). Benzer şekilde, 8 hafta boyunca DOCA-tuz uygulaması yapılan hayvanlarda ACh ile elde edilen damar gevşemesinin, kontrol grubu hayvanlara göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (Şekil 2B) ($p < 0,05$). 4 hafta ile 8 hafta DOCA-tuz grupları karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 2C).



Şekil 2. Sıçan torasik aortasının endotele bağımlı gevşeme cevapları üzerine 4 ve 8 hafta DOCA-tuz uygulamasının etkisi. DOCA-tuz uygulamasında 4 haftalık (A) ve 8 haftalık (B) uygulama süreleri, damarda ACh ile uyarılan endotele bağımlı gevşemeleri benzer şekilde azaltmıştır (C). Sonuçlar ortalama \pm SEM şeklinde gösterilmiştir. * $p < 0,05$ (n=8-11)

4 haftalık DOCA-tuz uygulaması sonucu, KCl ile sağlanan damar kasılma cevapları değişmemiştir. 8 haftalık DOCA-tuz grubunda ise bu kasılmaların azaldığı gözlenmiştir ($p < 0,05$). Ayrıca 8 haftalık DOCA-tuz grubunun KCl kasılma cevaplarının, 4 haftalık gruptan daha düşük olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 3A).

Hem 4 haftalık hem de 8 haftalık DOCA-tuz gruplarında FE kasılma cevaplarının, kontrole göre anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 3B).



Şekil 3. Farklı DOCA-tuz uygulama sürelerinin damar kasılma cevapları üzerine etkisi. DOCA-tuzun 4 hafta uygulanmasında sadece FE kasılma cevapları azalırken; 8 hafta DOCA-tuz uygulanması sonucunda, hem KCl (A) hem de FE (B) ile uyarılan kasılma cevapları azalmıştır. Sonuçlar ortalama \pm SEM şeklinde gösterilmiştir. * $p < 0,05$ (n=8-11)

TARTIŞMA

Bu çalışmada; DOCA-tuz deneysel hipertansiyon modelinde, 4 veya 8 hafta boyunca DOCA-tuz uygulamasının, sistolik kan basıncı ve damar kasılma cevapları üzerine farklı etkileri olduğu, fakat aortun endotele bağımlı gevşeme cevaplarını benzer şekilde azalttığı; ortaya konmuştur.

DOCA-tuz hipertansiyon modelinde, böbrek kitlesinin azaltılması ve DOCA uygulaması bunlara ek olarak NaCl/KCl verilmesi kan basıncında ilk haftalardan itibaren anlamlı bir yükselişe neden olmaktadır. Literatüre bakıldığında 4 ile 12 hafta arasında, farklı uygulama sürelerinin kullanıldığı görülmektedir^{12,13,15-17}.

DOCA-tuz uygulamasının farklı çalışmalarda farklı süreler devam etmiş olması, elde edilen sonuçlar arasında bazı tutarsızlıklara zemin

hazırlamaktadır. Bu nedenle, deneysel modelin uygulanacağı sürenin seçimi oldukça önemlidir.

Sıçanlarda 4 haftalık DOCA-tuz uygulaması, sistolik kan basıncını anlamlı olarak artırmak için yeterli olmaktadır¹⁶. Bizim deneylerimizde de 4 hafta sonunda DOCA-tuz hipertansif gruptaki sistolik kan basınçları anlamlı olarak yükselmiştir. 12 hafta gibi daha uzun süreli uygulamalarda ise, sistolik kan basıncının 8. haftaya kadar yükselmeye devam ettiği görülmektedir^{12,17}. Önceki araştırmalarla uyumlu olarak bu çalışmada, 8 hafta DOCA-tuz uygulaması yapılan sıçanlardaki sistolik kan basınçları, 4 hafta uygulama yapılan sıçanlardan daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda, DOCA-tuz modelinde, uygulamanın 8. haftasına kadar kan basıncı yükselişinin devam ettiği söylenebilir.

Kan damarlarının iç yüzeyini kaplayan endotel tabakası, vasküler tonusun ayarlanmasında oldukça önemlidir. Vasküler endotel işlev bozukluğu, hipertansiyon gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıkların başlatılmasında ve ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır¹⁸. DOCA-tuz, anjiyotensin II ile indüklenen, spontan hipertansif sıçan (SHR) gibi birçok hayvan modelinde ve insanlarda, hipertansiyona bağlı gelişen endotel işlev bozukluğu gösterilmiştir^{12,14,19-21}. Bu çalışmada, hipertansiyon süresine bağlı olarak endotel işlev bozukluğunun derecesi karşılaştırılmıştır. Hem 4 hafta hem de 8 hafta uygulanan DOCA-tuz hipertansiyon grubunda, endotel işlevlerinin bozulduğu bulunmuştur. Fakat endotel işlevlerindeki bozulma, hipertansiyonun süresine göre değişim göstermemiştir.

Vasküler düz kas, kasılma kuvvetini belirli bir seviyede sürdürme kabiliyeti bakımından benzersizdir. Bu kasılma gücü düzeyinin korunması, vasküler tonusu oluşturmaktadır. Vasküler düz kas kasılması, hücre içi serbest kalsiyum derişimi ile ve kasılma elemanlarının kalsiyuma duyarlılığı ile düzenlenmektedir. KCl

damar düz kasında reseptör uyarısından bağımsız olarak, hücre içi serbest kalsiyum düzeyini, hücre zarındaki voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının aktivasyonunu arttırarak, kasılmaları sağlamaktadır. DOCA-tuz uygulamasının 5 hafta boyunca yapıldığı bir çalışmada, hipertansif sıçanlarda KCl kaynaklı kasılmaların değişmediği gösterilmiştir²². Bizim çalışmamızda da 4 haftalık DOCA-tuz hipertansif sıçanlarda KCl ile sağlanan kasılmaların değişmediği gözlenmiştir. Bunun yanında, 8 hafta DOCA-tuz verilen sıçanlarda KCl kasılma cevaplarının anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur. KCl ile indüklenen kasılmadaki değişimin, vasküler duyarlıkta ve L tipi kalsiyum kanalı ekspresyonu veya aktivasyonunda değişimler nedeniyle olabileceği öne sürülmektedir²³. Sonuçlar reseptör aracısız kasılmaların, kısa süreli hipertansiyondan etkilenmediğini, daha uzun süreli hipertansiyonda ise, azalabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, altta yatan mekanizmaların açıklanabilmesi için daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Alfa-1 adreno reseptör aracılı kasılma cevabı ise hücre içi depolardan inositoltrifosfat (IP3) aracılı kalsiyum salımı ve hücre zarındaki kalsiyum kanallarından giren kalsiyum ile gerçekleşmektedir. Hücre içi kalsiyum homeostazındaki bozulma, hipertansiyona bağlı vasküler işlev bozukluğunda önemli rol oynamaktadır^{24,25}. Bu çalışmada, hem kısa süreli hem de uzun süreli DOCA-tuz hipertansiyonu sonucu FE ile uyarılan alfa-1 adreno reseptör aracılı kasılma cevaplarının anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. 4 ve 8 hafta hipertansif gruplar arasında ise, bir fark bulunamamıştır. Alfa-1 adreno reseptör aracılı kasılma mekanizmalarındaki değişimlerin veya bozuklukların, hipertansiyonun erken dönemlerinde başladığı görülmektedir. Bu değişimler, hücre içine kalsiyum girişiindeki bozukluklar nedeniyle olabileceği gibi hücre içi depolardan kaynaklanan işlev bozuklukları nedeniyle de olabilmektedir²⁴.

SONUÇ

Elde edilen sonuçlar, DOCA-tuz hipertansiyon modelinde kan basıncı artışının 8. haftaya kadar devam ettiği göstermektedir. Reseptör-aracısız düz kas kasılmaları kısa süreli DOCA-tuz hipertansiyondan etkilenmezken, hipertansiyonun daha ileri dönemlerinde azalmıştır. Damarda endotele bağımlı gevşeme cevapları ve düz kasın alfa-1 adreno reseptör aracılı kasılmaları, DOCA-tuz hipertansiyonun erken dönemlerinde bozulmaya başlamaktadır. Bu veriler ışığında, hipertansiyon çalışmalarında sıklıkla kullanılan DOCA-tuz deneysel modelinin uygulama süresinin deney sonuçlarını etkileyebileceği görülmektedir. Araştırmanın tasarımında ve sonuçların yorumlanması aşamasında hipertansiyon süresi göz önünde bulundurulmalıdır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma her hangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Sözen K, Ergör G, Ünal B. Hipertansiyon sıklığı, farkındalığı, tedavi alma ve kan basıncı kontrolünü etkileyen etmenler. Dicle Medical Journal / Dicle Tıp Dergisi. 2015;42:199-207.
2. Basting T, Lazartigues E. DOCA-Salt Hypertension: an Update. Curr Hypertens Rep. 2017;19:32.
3. Lerman LO, Kurtz TW, Touyz RM, et al. Animal Models of Hypertension: A Scientific Statement From the American Heart Association. Hypertension. 2019:HYP0000000000000090.
4. Carretero OA, Oparil S. Essential hypertension. Part I: definition and etiology. Circulation. 2000;101:329-35.
5. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. Nat Rev Neurosci. 2006;7:335-46.

6. Crowley SD, Coffman TM. In hypertension, the kidney breaks your heart. *Curr Cardiol Rep.* 2008;10:470-6.
7. Takeda K, Nakamura Y, Hayashi J, et al. Effects of Salt and Doca on Hypothalamic and Baroreflex Control of Blood-Pressure. *Clinical and Experimental Hypertension Part a-Theory and Practice.* 1988;10:289-99.
8. Takeda K, Nakamura Y, Oguro M, et al. Central Attenuation of Baroreflex Precedes the Development of Hypertension in Doca-Salt-Treated Rats. *American Journal of Hypertension.* 1988;1:S23-S5.
9. Takeda K, Nakamura Y, Okajima H, et al. Attenuated Cardiovascular and Sympathetic-Nerve Responses to Aortic Nerve-Stimulation in Doca-Salt Hypertensive Rats. *Journal of Hypertension.* 1988;6:559-63.
10. Ueno Y, Mohara O, Brosnihan KB, Ferrario CM. Characteristics of hormonal and neurogenic mechanisms of deoxycorticosterone-induced hypertension. *Hypertension.* 1988;11:1172-7.
11. Sapouckey SA, Deng G, Sigmund CD, Grobe JL. Potential mechanisms of hypothalamic renin-angiotensin system activation by leptin and DOCA-salt for the control of resting metabolism. *Physiol Genomics.* 2017;49:722-32.
12. Han S, Bal NB, Sadi G et al. Inhibition of endoplasmic reticulum stress protected DOCA-salt hypertension-induced vascular dysfunction. *Vascul Pharmacol.* 2019;113:38-46.
13. Han S, Bal NB, Sadi G, et al. The effects of LXR agonist GW3965 on vascular reactivity and inflammation in hypertensive rat aorta. *Life Sci.* 2018;213:287-93.
14. Han S, Uludag MO, Usanmaz SE, et al. Resveratrol affects histone 3 lysine 27 methylation of vessels and blood biomarkers in DOCA salt-induced hypertension. *Mol Biol Rep.* 2015;42:35-42.
15. Cassinotti LR, Guil MJ, Scholler MI, et al. Chronic Blockade of Brain Endothelin Receptor Type-A (ETA) Reduces Blood Pressure and Prevents Catecholaminergic Overactivity in the Right Olfactory Bulb of DOCA-Salt Hypertensive Rats. *Int J Mol Sci.* 2018;19.
16. Bae EH, Kim IJ, Song JH et al. Renoprotective Effect of the Histone Deacetylase Inhibitor CG200745 in DOCA-Salt Hypertensive Rats. *Int J MolSci.* 2019;20.
17. Kubacka M, Zadrozna M, Nowak B, et al. Reversal of cardiac, vascular, and adrenal dysfunction by non-quinazoline α 1-adrenolytics in DOCA-salt hypertensive rats: a comparison with prazosin, a quinazoline-based α 1-adrenoceptor antagonist. *Hypertens Res.* 2019.
18. Jamwal S, Sharma S. Vascular endothelium dysfunction: a conservative target in metabolic disorders. *Inflamm Res.* 2018;67:391-405.
19. Ye F, Wu Y, Chen Y, Xiao D, Shi L. Impact of moderate- and high-intensity exercise on the endothelial ultrastructure and function in mesenteric arteries from hypertensive rats. *Life Sci.* 2019;222:36-45.
20. Niazi ZR, Silva GC, Ribeiro TP, et al. EPA:DHA 6:1 prevents angiotensin II-induced hypertension and endothelial dysfunction in rats: role of NADPH oxidase- and COX-derived oxidative stress. *Hypertens Res.* 2017;40:966-75.
21. Mordi I, Mordi N, Delles C, Tzemos N. Endothelial dysfunction in human essential hypertension. *J Hypertens.* 2016;34:1464-72.
22. Bockman CS, Jeffries WB, Pettinger WA, Abel PW. Enhanced release of endothelium-derived relaxing factor in mineralocorticoid hypertension. *Hypertension.* 1992;20:304-13.
23. Galisteo M, Garcia-Saura MF, Jimenez R, et al. Effects of quercetin treatment on vascular function in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. Comparative study with verapamil. *Planta Med.* 2004;70:334-41.
24. Goulopoulou S, Webb RC. Symphony of Vascular Contraction How Smooth Muscle Cells Lose Harmony to Signal Increased Vascular Resistance in Hypertension. *Hypertension.* 2014;63:E33-E9.
25. Sonkusare S, Palade PT, Marsh JD, et al. Vascular calcium channels and high blood pressure: Pathophysiology and therapeutic implications. *Vascular Pharmacology.* 2006;44:131-42.