

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANTRENE SIÇANLARDA 20-HETE’NİN DİRENÇ VE
İLETİM TİPİ ARTERLERDE VASKÜLER
TONUSA ETKİSİ

Seher ÜLKER

DOKTORA TEZİ

2018-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANTRENE SIÇANLARDA 20-HETE’NİN DİRENÇ VE
İLETİM TİPİ ARTERLERDE VASKÜLER
TONUSA ETKİSİ

Seher ÜLKER

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ümit Kemal ŞENTÜRK

Bu tez TDK-2015-311 proje numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ve 115S001 proje numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2018-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalı Fizyoloji Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 22/01/2018

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ümit Kemal ŞENTÜRK
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Filiz BASRALI
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Sadi ÖZDEM
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Mustafa EDREMITLIOĞLU
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Melek BOR KÜÇÜKATAY
Pamukkale Üniversitesi

İmza

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

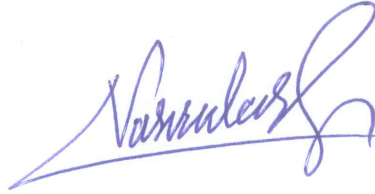
Prof. Dr. Narin DERİN

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Seher ÜLKER



Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ümit Kemal ŞENTÜRK



TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince üstün bilgi birikimlerini ve deneyimlerini benden esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Ümit Kemal ŞENTÜRK'e, doktora eğitimim esnasında tüm katkılarından dolayı anabilim dalımızın değerli hocalarına, vermiş oldukları desteklerden dolayı Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün tüm çalışanlarına, manevi desteğini hep yanımda hissettiğim eşim Erdem ÜLKER ve sevgili oğlum Ateş ÜLKER'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

ÖZET

Amaç: Düzenli fiziksel aktiviteler sonrasında vasküler tonusa etki eden çeşitli adaptasyonlar olduğu iyi bilinmektedir. İstirahat koşullarında birçok kasıcı ve gevşetici mediatörün vasküler tonustaki değişikliklere katkısı bilinirken, lokal dolaşımın düzenlenmesinde etkisi bulunan 20-hidroksieikosatetraenoik asit (20-HETE) için literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, birçok damar yatağında vazokonstriktif etkili olduğu bilinen 20-HETE'nin, düzenli fiziksel aktiviteler sonucu direnç ve iletim tipi arterlerdeki vasküler tonusa etkisi ve sistemik kan basıncına katkısındaki olası değişiklikleri incelemeyi amaçladık.

Yöntem: 6-8 aylık Wistar cinsi sıçanlar, kontrol ve egzersiz, olmak üzere iki gruba ayrıldı. Egzersiz grubuna 5 gün/hafta, 1 saat/gün, 8 hafta süresince yüzme egzersizi yaptırıldı. İntra-arteriyel ortalama kan basıncı karotid arterden ölçüldü. 20-HETE'nin iletim tipi arterde (torasik aorta) ve direnç damarlarında (gastrokinemius ve mezenterik arterler) vasküler tonusa doğrudan ve çeşitli vazoaaktif maddelerin yaptığı etkilere katkısı organ banyosu ve miyografta değerlendirildi. İzole edilen damarlarda 20-HETE düzeyi ve 20-HETE üretiminden sorumlu enzim CYP4A ekspresyonu ölçüldü.

Bulgular: Düzenli yüzme egzersizleri sonucu 20-HETE'nin kan basıncının düzenlenmesindeki katkısının azaldığı saptandı. Gastrokinemius direnç damarlarında 20-HETE'nin vasküler tonusa katkısının azaldığı hem doğrudan hem de çeşitli vazokonstriktif ajanların yanıtının azalmasına neden olduğu belirgin olarak gözlenirken, torasik aorta ve mezenterik arterlerde bu etkinin olmadığı saptandı. CYP4A ekspresyonu ve 20-HETE üretimi gastrokinemius damarlarında azaldı.

Sonuç: Egzersize bağlı olarak, 20-HETE'nin kan basıncı düzenlenmesindeki etkisinin ve gastrokinemius direnç damarlarında vasküler tonusa vazokonstriktif katkısının azaldığı, bu etkilerin CYP4A protein miktarının azalmasına bağlı olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: 20-HETE, CYP4A, vasküler tonus, miyograf, egzersiz

ABSTRACT

Objective: It is well known that there are various adaptations which affect vascular tone in arteries after regular physical activities. There hasn't been any study in literature for 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) that has an effect on regulation of local circulation, while it is known that many contractile and relaxant mediators contribute to changes in vascular tone at rest conditions. In this study, we aimed to investigate the effect of 20-HETE, which is known to be vasoconstrictive in many vascular beds, on vascular tone in resistance and conduit type arteries and the probable changes on its contribution to systemic blood pressure as a result of regular physical activities.

Method: 6-8 month old Wistar rats were divided into two groups, control and exercise. Exercise group were subjected to swimming exercise for 5 day/week, 1 hour/day for 8 weeks. Intra-arterial mean blood pressure was measured from carotid artery. The direct effect of 20-HETE on vascular tone in the conduit type artery (thoracic aorta) and resistance vessels (gastrocnemius and mesenteric arteries) and its contribution to the effects of various vasoactive substances were evaluated in organ bath and myograph. 20-HETE levels and the expression of CYP4A, the enzyme responsible for 20-HETE production, were measured in isolated vessels.

Results: It has been found that the contribution of 20-HETE on regulation of blood pressure is reduced as a result of regular swimming exercises. It has been obviously observed that 20-HETE's contribution to vascular tonus is decreased both directly and caused to decrease response to various vasoconstrictive agents in gastrocnemius resistance vessels, but this effect was not obtained in thoracic aorta and mesenteric arteries. CYP4A expression and 20-HETE production were decreased in the gastrocnemius vessels.

Conclusion: It has been demonstrated that depending on exercise, the effect of 20-HETE on regulation of blood pressure and its vasoconstrictive contribution on vascular tonus in gastrocnemius resistance artery are decreased, and these effects are associated with the decrease of CYP4A protein.

Key words: 20-HETE, CYP4A, vascular tone, myograph, exercise

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|---|-------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| İÇİNDEKİLER | iii |
| TABLolar DİZİNİ | vi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | vii |
| SİMGELER ve KISALTMALAR | ix |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENELBİLGİLER | 3 |
| 2.1. Egzersiz Sırasında İskelet Kası Kan Akımının Düzenlenmesi | 3 |
| 2.1.1. Lokal Kontrol Mekanizmaları | 5 |
| 2.1.2. Merkezi Kontrol Mekanizmaları | 7 |
| 2.2. Düzenli Fiziksel Aktiviteler Sonrasında Kan Damarlarında Görülen Adaptasyonlar | 11 |
| 2.2.1. Egzersizin Kan Basıncına Etkisi | 12 |
| 2.2.2. Egzersizde Endotelial Adaptasyonlar | 13 |
| 2.2.3. Egzersizde Damar Düz Kasının Vazodilatör ve Vazokonstriktör Uyaranlara Yanıtı | 16 |
| 2.2.4. Egzersizde Damarların Yapısal Uyumu | 20 |
| 2.3. 20-HETE | 22 |
| 2.3.1. Araşidonik Asit Metabolitleri | 22 |
| 2.3.2. 20-HETE Biyosentezi | 23 |
| 2.3.3. 20-HETE Metabolizması | 25 |
| 2.3.4. 20-HETE Sentezinin Biyolojik ve Sentetik Düzenleyicileri | 25 |
| 2.3.5. 20-HETE'nin Vasküler Etkileri | 27 |
| 2.5. Amaç ve Hipotez | 35 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER | 37 |
| 3.1. Gruplandırma | 37 |
| 3.2. Egzersiz Protokolü | 37 |

| | | |
|-----------|--|----|
| 3.3. | Deneyin Sonlandırılması | 38 |
| 3.3.1. | Sitrat Sentaz Aktivitesinin Ölçümü | 38 |
| 3.4. | <i>In vivo</i> Çalışma | 39 |
| 3.4.1. | Kan Basıncı Ölçümü | 39 |
| 3.5. | <i>Ex vivo</i> Çalışma | 40 |
| 3.5.1. | Dokuların ve Damarların İzolasyonu | 40 |
| 3.5.2. | Organ Banyosu ve Telli Miyograf Çalışması Ön Hazırlık | 40 |
| 3.5.3. | 20-HETE'nin Vasküler Tonusa Etkisinin İncelenmesi | 42 |
| 3.6. | 20-HETE üretimi ve Düzeyinin Belirlenmesi | 44 |
| 3.6.1. | 20-HETE Ölçümü | 44 |
| 3.6.2. | Wester Blot Analizi | 46 |
| 3.7. | Verilerin Değerlendirilmesi | 48 |
| 4. | BULGULAR | 49 |
| 4.1. | <i>In vivo</i> Çalışma Ortalama Kan Basıncı Değerleri | 49 |
| 4.2. | <i>Ex vivo</i> Çalışma Torasik Aort Yanıtları | 49 |
| 4.2.1. | Torasik Aort Noradrenalin Kasılma Yanıtı | 49 |
| 4.2.2. | Torasik Aort Fenilefrin Kasılma Yanıtı | 50 |
| 4.2.3. | Torasik Aort Vazopresin Kasılma Yanıtı | 51 |
| 4.2.4. | Torasik Aort Anjiyotensin II Kasılma Yanıtı | 52 |
| 4.2.5. | Torasik Aort Tromboksan A2 agonisti Kasılma Yanıtı | 52 |
| 4.2.6. | Torasik Aort Asetilkolin Gevşeme Yanıtı | 53 |
| 4.2.7. | Torasik Aort HET0016 Doz Yanıtı | 53 |
| 4.3. | <i>Ex vivo</i> Çalışma Gastrokinemius Direnç Damarları Yanıtları | 54 |
| 4.3.1. | Gastrokinemius Direnç Damarları Noradrenalin Kasılma Yanıtı | 54 |
| 4.3.2. | Gastrokinemius Direnç Damarları Fenilefrin Kasılma Yanıtı | 55 |
| 4.3.3. | Gastrokinemius Direnç Damarları Vazopresin Kasılma Yanıtı | 55 |
| 4.3.4. | Gastrokinemius Direnç Damarları Anjiyotensin II Kasılma Yanıtı | 56 |
| 4.3.5. | Gastrokinemius Direnç Damarları Tromboksan A2 agonisti Kasılma Yanıtı | 57 |
| 4.3.6. | Gastrokinemius Direnç Damarları Asetilkolin Gevşeme Yanıtı | 57 |
| 4.3.7. | Gastrokinemius Direnç Damarları HET0016 Doz Yanıtı | 58 |
| 4.4. | <i>Ex vivo</i> Çalışma Mezenter Direnç Damarları Yanıtları | 58 |
| 4.4.1. | Mezenter Direnç Damarları Noradrenalin Kasılma Yanıtı | 58 |

| | |
|---|----|
| 4.4.2. Mezenter Direnç Damarları Fenilefrin Kasılma Yanıtı | 59 |
| 4.4.3. Mezenter Direnç Damarları Vazopresin Kasılma Yanıtı | 59 |
| 4.4.4. Mezenter Direnç Damarları Anjiyotensin II Kasılma Yanıtı | 60 |
| 4.4.5. Mezenter Direnç Damarları Tromboksan A2 agonisti Kasılma Yanıtı | 61 |
| 4.4.6. Mezenter Direnç Damarları Asetilkolin Gevşeme Yanıtı | 62 |
| 4.4.7. Mezenter Direnç Damarları HET0016 Doz Yanıtı | 62 |
| 4.5. Damar Yanıtlarının Özet Değerlendirilmesi | 63 |
| 4.6. Vasküler Dokuda 20-HETE Üretimi ve Düzeyi | 63 |
| 4.6.1. Vasküler Dokuda CYP4A Ekspresyonu | 63 |
| 4.6.2. Vasküler Dokuda 20-HETE Düzeyi | 64 |
| 4.7. <i>Vastus Lateralis</i> Kasında Sitrat Sentaz Aktivitesi | 65 |
| 5. TARTIŞMA | 67 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER | 75 |
| KAYNAKLAR | 76 |
| ÖZGEÇMİŞ | |

TABLÖLAR DİZİNİ

| | | |
|------------|---|----|
| Tablo 2.1. | Fiziksel aktivitenin hipertansiyon gelişimini önleyebileceğine dair önerilen mekanizmalar | 12 |
| Tablo 2.2. | Egzersizde çeşitli damar tiplerinin vazodilatör ve vazokonstriktör uyaranlara yanıtı | 17 |
| Tablo 4.1. | Özet tablo | 63 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| Şekil | Sayfa |
|--|-------|
| 2.1. İskelet kasının vasküler yapılanması | 4 |
| 2.2. İletilen vazodilatasyon | 6 |
| 2.3. Egzersizde NO biyoyararlanımı | 15 |
| 2.4. Egzersiz sonucunda görülen endotel bağımlı gevşeme üzerine organ, damar boyutu ve egzersiz süresin etkisi | 16 |
| 2.5. Egzersizde vasküler fonksiyon ve yapıda görülen zamana bağlı değişiklikler | 21 |
| 2.6. Araşidonik asit (AA) metabolizması | 23 |
| 2.7. CYP aracılı araşidonik asit metabolizması ve 20-HETE sentezi | 24 |
| 2.8. 20-HETE metabolizması | 25 |
| 2.9. 20-HETE sentezinin düzenlenmesi | 26 |
| 2.10. 20-HETE'in vazokonstriktör etkisine aracılık eden mekanizmalar | 32 |
| 3.1. Organ banyosu sistemi | 41 |
| 3.2. Telli miyograf sistemi | 42 |
| 4.1. Ortalama kan basıncı değerleri. | 49 |
| 4.2. Torasik aorta damarlarının noradrenalin (NA) aracılı kasılma yanıtları | 50 |
| 4.3. Torasik aorta damarlarının fenilefrin (Phe) aracılı kasılma yanıtları | 51 |
| 4.4. Torasik aorta damarlarının vazopresin (Vaz) aracılı kasılma yanıtları | 51 |
| 4.5. Torasik aorta damarlarının anjiyotensin II (Ang II) aracılı kasılma Yanıtları | 52 |
| 4.6. Torasik aorta damarlarının damarlarının tromboksan A2 agonisti (U-46619) aracılı kasılma yanıtları | 53 |
| 4.7. Torasik aorta damarlarının asetilkolin (Ach) aracılı gevşeme yanıtları | 53 |
| 4.8. Torasik aorta damarlarının HET0016 aracılı gevşeme yanıtları | 54 |
| 4.9. Gastrokinemius direnç damarlarının noradrenalin (NA) aracılı kasılma yanıtları | 54 |
| 4.10. Gastrokinemius direnç damarlarının fenilefrin (Phe) aracılı kasılma yanıtları | 55 |
| 4.11. Gastrokinemius direnç damarlarının vazopresin (Vaz) aracılı kasılma yanıtları | 56 |

| | |
|---|----|
| 4.12. Gastrokinemius direnç damarlarının anjiyotensin II (Ang II) aracılı Kasılma yanıtları | 56 |
| 4.13. Gastrokinemius direnç damarlarının tromboksan A2 agonisti (U-46619) aracılı kasılma yanıtları | 57 |
| 4.14. Gastrokinemius direnç damarlarının asetilkolin (Ach) aracılı gevşeme yanıtları | 58 |
| 4.15. Gastrokinemius direnç damarlarının HET0016 aracılı gevşeme yanıtları | 58 |
| 4.16. Mezenter direnç damarlarının noradrenalin (NA) aracılı kasılma yanıtları | 59 |
| 4.17. Gastrokinemius direnç damarlarının fenilefrin (Phe) aracılı kasılma yanıtları | 59 |
| 4.18. Mezenter direnç damarlarının vazopresin (Vaz) aracılı kasılma yanıtları | 60 |
| 4.19. Mezenter direnç damarlarının anjiyotensin II (Ang II) aracılı kasılma yanıtları | 61 |
| 4.20. Mezenter direnç damarlarının tromboksan A2 agonisti (U-46619) aracılı kasılma yanıtları | 61 |
| 4.21. Mezenter direnç damarlarının asetilkolin (Ach) aracılı gevşeme yanıtları | 62 |
| 4.22. Mezenter direnç damarlarının HET0016 aracılı gevşeme yanıtları | 62 |
| 4.23. Torasik aorta gastrokinemius ve mezenter direnç damarlarında CYP4A ekspresyonu | 64 |
| 4.24. Torasik aorta, gastrokinemius ve mezenter direnç damarlarında 20-HETE düzeyi | 65 |
| 4.25. <i>Vastus lateralis</i> kasında sitrat sentaz enzim aktivitesi | 66 |

SİMGELER ve KISALTMALAR

| | |
|-----------------------|--|
| 20-HETE | :20-hidroksieikosatetraenoik asit |
| AA | :Araşidonik asit |
| Ach | :Asetilkolin |
| Ang II | :Anjiyotensin II |
| ATP | :Adenozin trifosfat |
| BKCa | :Ca ⁺² ile aktive olan iletkenliği büyük K ⁺ kanalları |
| CO | :Karbonmonoksit |
| CO₂ | :Karbondioksit |
| COX | :Siklooksijenaz |
| CYP450 | :Sitokrom P450 |
| CYP4A | :Sitokrom P450A |
| diHETE | :dihidroksieikosatetraenoik asit |
| EBG | :Endotel bağımlı gevşeme |
| EDHF | :Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör |
| EET | :Epoksieikosatrienoik asitler |
| Emax | :Maksimal kasılma/gevşeme değeri |
| eNOS | :Endotelyal nitrik oksit sentaz |
| ET-1 | :Endotelin-1 |
| Flk-1 | :Fetal karaciğer kinaz 1 |
| HET0016 | :N-Hydroxy-N'-(4-butyl-2-methylphenyl)-formamidine |
| HIF-1 | :Hipoksiyle indüklenen faktör-1 |
| HO-1 | :Hemoksijenaz-1 |
| KCl | :Potasyum klorür |
| LOX | :Lipooksijenaz |
| MAPK | :Mitojen aktive protein kinaz |
| NA | :Noradrenalin |
| NE | :Norepinefrin |
| NF-KB | :Nükleer faktör-kappa beta |
| nNOS | :Nöronal nitrik oksit sentaz |
| NO | :Nitrik oksit |
| NOS | :Nitrik oksit sentaz |

| | |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| PG | :Prostaglandin |
| PGF2α | :Prostaglandin F2 α |
| PGI₂ | :Prostasiklin |
| Phe | :Fenilefrin |
| PI3K | :Fosfoinositol 3-kinaz |
| PKC | :Protein kinaz C |
| ROS | :Reaktif oksijen türleri |
| SNP | :Sodyum nitroprussid |
| SHR | :Spontan hipertansif sıçan |
| Tbx | :Tromboksan |
| TPR | :Total periferik direnç |
| U-46619 | :Tromboksan A2 agonisti |
| Vaz | :Vazopresin |
| VEGF | :Vasküler endotelial büyüme faktörü |
| VO₂ max | :Maksimal oksijen kapasitesi |

1. GİRİŞ

Araşidonik asit (AA) siklooksijenaz (COX), lipooksijenaz (LOX) veya sitokrom P450 (CYP450) oksijenaz tarafından prostaglandinler, tromboksanlar ve CYP450 kaynaklı metabolitler gibi biyoaktif moleküllere metabolize olur. AA epoksijenaz enzimleri tarafından epoksieikosatrienoik asitlere (EET) metabolize olurken, hidroksilazlar tarafından hidroksieikosatetraenoik asitler (HETE) oluşmaktadır (Capdevila ve Falck, 2002; Roman, 2002). Bu bileşikler hem normal hem de patolojik durumlarda çeşitli fizyolojik fonksiyonların yürütülmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Araşidonik asit metabolizması sonucu oluşan ürünlerin kardiyovasküler sistem özellikle de mikrodolaşım üzerine önemli etkileri mevcuttur. AA'dan Sitokrom P450A (CYP4A) ω -hidroksilaz tarafından vazokonstriktör bir bileşik olan 20-hidroksieikosatetraenoik asit (20-HETE) oluşmaktadır. 20-HETE arteriyal basıncın uzun dönemli kontrolünde ve renal fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Williams ve ark., 2010; Wu ve ark., 2014; Hoopes ve ark., 2015; Fan ve ark., 2016).

Yapılan çalışmalar sonucu 20-HETE'nin renal (Ma ve ark., 1993; Imig ve ark., 1996; Sun ve ark., 1998; Alonso-Galicia ve ark., 1999), mezenterik (Wang ve ark., 2001), serebral (Harder ve ark., 1994; Harder ve ark., 1998) ve iskelet kası damarlarında (Harder ve ark., 1996; Kunert ve ark., 2001) etkili bir vazokonstriktör olduğu gösterilmiştir (Roman, 2002; Pat Kunert ve Drenjancevic, 2011). 20-HETE vasküler tonusun düzenlenmesine doğrudan katkıda bulunabildiği gibi çeşitli vazokonstriktif maddelere aracılık yaparak da bu etkisini göstermektedir. Vasküler dokuda 20-HETE oluşumu noradrenalin, anjiyotensin, serotonin, endotelin ve tromboksan ile uyarılır (Roman, 2002). 20-HETE başlıca vazokonstriktör etkisini, Ca^{+2} ile aktive olan iletkenliği büyük K^{+} kanallarını (BKCa) doğrudan ya da protein kinaz C (PKC) aracılı inhibe ederek göstermektedir (Pat Kunert ve Drenjancevic, 2011). Bunların yanında 20-HETE'nin mitojen aktive protein kinaz (MAPK), src tip tirozin kinaz ve rho kinaz yollarını aktive ederek de vazokonstriksiyona neden olabileceği gösterilmiştir (Williams ve ark., 2010; Fan ve ark., 2016).

Düzenli fiziksel aktiviteler sonucunda vücudumuzda çeşitli dokularda birçok uyum gerçekleşmektedir. Bu konudaki araştırmalar halen ayrıntılı olarak incelenmeye

devam etmekle birlikte, egzersizin organizmada yarattığı bu süreçte kardiyovasküler sistem ön planda uyum gösteren yapıdır. Kardiyovasküler adaptasyonların en önemli göstergelerinden biri de, düzenli fiziksel aktiviteler sonrasında hem sağlıklı bireylerin hem de hipertansif hastaların dinlenim kan basınçlarında görülen düşüştür. (Kelley ve ark., 2001; Whelton ve ark., 2002; Cornelissen ve Fagard, 2005; Cornelissen ve Smart, 2013; Huang ve ark., 2013; Semlitsch ve ark., 2013). Egzersizin kan basıncını düşürücü etkisinde ileri sürülen mekanizmalardan biri de, vasküler tonusa etki eden vazodilatör ve vazokonstriktör etkili maddeler arasındaki dengenin vazodilatasyon yönüne doğru kaymasıdır. Düzenli yapılan fiziksel aktiviteler sonucu vazoaktif uyaranlara karşı damar yanıtları çeşitlilik gösterse de, özellikle vazodilatör uyaranlara karşı gevşeme yanıtının arttığı, vazokonstriktör uyaranlara karşı ise kasılma yanıtının azaldığı göze çarpmaktadır (Tablo 2.2.). Bu konuda bizim laboratuvarlarımızda yaptığımız çalışmalarda da egzersiz yaptırılan sıçanların vasküler kasılma yanıtlarının azaldığı ve gevşeme yanıtlarının arttığı gösterilmiştir (Kuru ve ark., 2009; Gunduz ve ark., 2011; Ulker ve ark., 2017).

Düzenli fiziksel aktiviteler sonrasında istirahat koşullarında vasküler tonustaki değişikliklerde birçok mediatörün katkısı bilinirken, lokal dolaşımın düzenlenmesinde yer alan vazokonstriktif etkili olduğu bilinen 20-HETE için herhangi bir çalışma yoktur. Bu bilgiler ışığında araştırmamızın amacı düzenli yüzme egzersizi ile antrene hale getirilen sıçanların iskelet kası ile mezenter yatağa ait direnç damarlarında ve iletim tipi arter olan torasik aortalarında 20-HETE'nin vasküler kasılma yanıtlarındaki olası rolünü ortaya koymaktır. Bu amaç doğrultusunda antrene hale getirilen sıçanlarda; 20-HETE'nin akut kan basıncı üzerine etkisi, çeşitli vazokonstriktör ve vazodilatör ajanlara karşı oluşturulan vasküler yanıtlarda 20-HETE'nin katkısı, ayrıca iletim ve direnç tipi damarlarda bazal 20-HETE düzeyi ve CYP4A protein ekspresyonu, incelenmiştir.

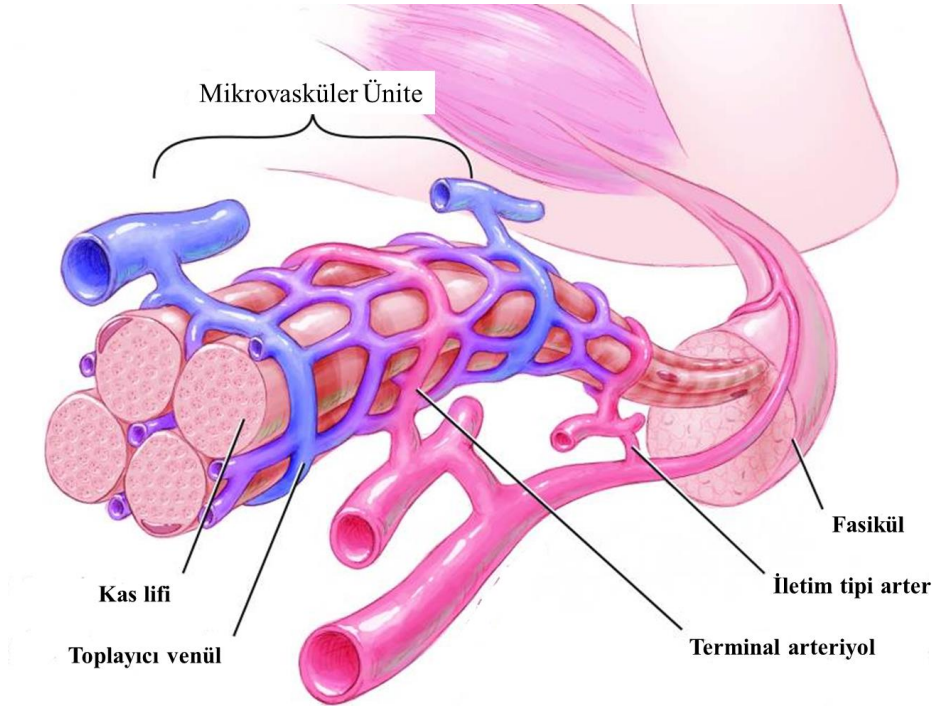
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersiz Sırasında İskelet Kası Kan Akımının Düzenlenmesi

Birçok organda hücre metabolizmasındaki artışa bağlı olarak kan akımı artmaktadır. Bu durum “aktif hiperemi” veya “fonksiyonel hiperemi” olarak adlandırılır. Egzersiz sırasında kas dokusunun artan metabolik ihtiyacını karşılamak üzere, iskelet kası kan akımında artış görülmektedir. Fiziksel aktivite sırasında metabolik ihtiyacı karşılamak üzere iskelet kası kan akımının artması ise “egzersiz hiperemisi” olarak anılmaktadır (Davis, 2008; Korthuis, 2011). Fiziksel aktivite sırasında kalp debisinde görülen artışın yanı sıra, vücut kan dağılımı yeniden düzenlenir. Kalp debisi, yapılan fiziksel aktivitenin şiddetine bağlı olarak istirahat düzeyinin 4-5 katına kadar artabilmektedir. Fiziksel aktivite sırasında kan fiziksel aktiviteye katkıda bulunmayan organlardan, kaslara doğru yönlendirilir (Tschakovsky, 2010; Korthuis, 2011). İstirahat döneminde tüm kas kitlesine gönderilen kan miktarı ortalama kalp debisinin % 20’si civarında iken, maksimal fiziksel aktivitede artmış kalp debisinin % 70-80’ni düzeyine kadar ulaşabilmektedir (Plowman, 2011).

İskelet kasının vasküler yapılanması

İskelet kasının vasküler yapılanması incelendiğinde (Şekil 2.1.) ana arterler, kasın uzun eksenini boyunca yer alır ve kasın epimisiyumuna doğru besleyici arterleri verirler. İkincil düzeydeki dallar, bu besleyici damarlardan dik açı ile ayrılır ve uzunlamasına yol alırlar. Arteriolar ağ, damarların kas içine girdiği noktada besleyici arterden köken alıp dallanan damarlardan oluşmaktadır. Arteriyoller, perimisiyuma girer ve perimisiyuma nüfuz eden terminal dalları oluşturana kadar kas lifi eksenine dik olarak hareket ederler ve hemen endomisiyum içine gömülmüş ve kas lifine paralel seyreden çok sayıda kılcal damara ayrılırlar. Terminal arteriyoller vasküler düz kas içeren son dallardır. Böylece, terminal arteriyol ile perfüze olan kapillerler iskelet kasında kan akışının düzenlenmesi için en küçük fonksiyonel birimi temsil eden mikrovasküler ünite olarak adlandırılmaktadır .



Şekil 2.1. İskelet kasının vasküler yapılanması

Sınıflandırma

Dinamik egzersiz sırasında, kasılan iskelet kasına yeterli düzeyde oksijen sağlamak için oldukça karmaşık ve çoklu kardiyovasküler düzenlemeler gerektirmektedir. İskelet kası içinde kan akımının düzenlenmesi ve oksijen dağıtımı bir takım mekanizmaların birlikteliği sonucunda gerçekleşmektedir. İskelet kası kan akımının düzenlenmesinde görev alan bu mekanizmalar şu şekilde sınıflandırılmaktadır (Clifford ve Hellsten, 2004; Delp ve O'Leary, 2004; Sarelius ve Pohl, 2010; Hudlicka, 2011; Korthuis, 2011).

Lokal kontrol mekanizmaları

- Metabolik kontrol
- Endotel aracılı vasküler kontrol,
- İletilen vazodilatasyon
- Kas pompası
- Miyojenik vasküler kontrol
- Eritrosit aracılı vazodilatasyon

Merkezi kontrol mekanizmaları

- Nöral düzenlemeler

2.1.1. Lokal Kontrol Mekanizmaları

Metabolik Kontrol

Egzersiz sırasında kas metabolizmasının artması metabolitlerin intertisyuma salınmasına neden olarak direnç damarlarında ve prekapiller sfinkterlerde vazodilatasyona sebep olur. Böylece kas vasküler direncinde azalma ve kan akımında artış meydana gelir. Kan akımındaki artış, egzersiz sırasında dokunun artan oksijen gereksinimini karşılamak için yeterli miktarda oksijen sağlar. Metabolik regülasyondan sorumlu başlıca kimyasal mediatörler CO_2 , K^+ , H^+ , laktat ve adenozindir. Bilindiği üzere bunların herbiri vasküler düz kasta gevşetici etki gösterir. Bu listeye inorganik fosfat, prostaglandinler ve sitokinler de dahil edilebilir (Boushel, 2003; Davis, 2008; Sarelius ve Pohl, 2010).

Endotel Aracılı Vasküler Kontrol

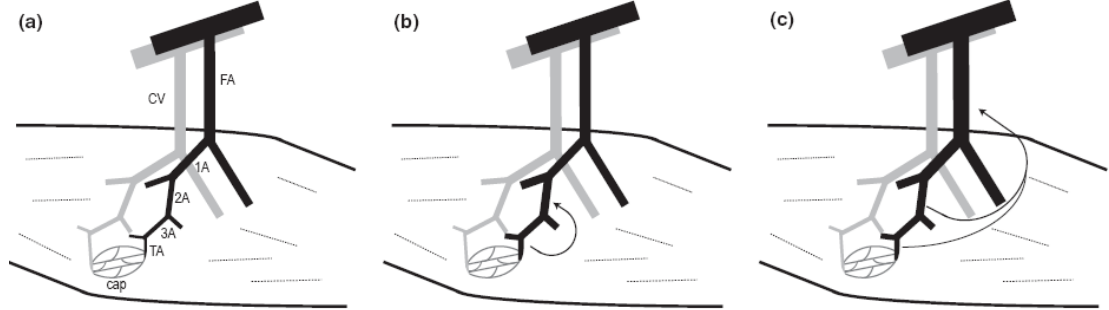
Endotel dokusu pek çok uyarıya cevaben salgıladığı mediatörler ile vazomotor yanıtları düzenlemek için damar düz kas tonusuna etki eder. Endotel hücreleri dolaşımdaki kimyasal bileşikler, kayma gerilimi ve damar gerimi gibi damar duvarına etki eden fiziksel kuvvetleri algılar ve bu kimyasal veya fiziksel sinyallere cevap olarak vasküler tonusu veya damar yapısını düzenleyen bileşikler salgılar. Egzersizle uyarılan hipereminin olası mediatörleri arasında endotelden salınan nitrik oksit (NO), prostosiklin ve EDHF (endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör) gibi vazodilatör bileşikler gelmektedir (Clifford ve Hellsten, 2004; Sarelius ve Pohl, 2010).

İskelet kası kan akımının düzenlenmesinde rolü olan akım aracılı vazodilatör mekanizma endotel hücreleri üzerinden gerçekleşmektedir. Akım hızına bağlı olarak oluşan kayma gerilimi endotel hücrelerini uyarır ve endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivasyonuna neden olarak NO, prostasiklin (PGI_2) ve EDHF aracılı vazodilatasyona sebep olur (Clifford ve Hellsten, 2004; Sarelius ve Pohl, 2010).

İletilen Vazodilatasyon

Kapillerler ve terminal arteriyoller kas liflerinin arasında yer alırlar ve metabolik ürünlerle etkileşecek şekilde hücreler arası sıvıyla temas halindedirler. Fakat egzersiz hiperemisinin etkin bir şekilde gerçekleşmesi için daha üst düzeydeki direnç damarlarında da genişleme gerekmektedir. Bu yüzden lokal vasküler kontrol için mikrodolaşımdan başlayıp daha büyük besleyici arterlere doğru iletilen

vazodilatasyon terimi ortaya atılmıştır (Şekil 2.2). Bu iletişim endotel hücreleri ve düz kas hücreleri arasındaki iyon kanalları (gap junctionlar) aracılığıyla gerçekleşmektedir (Bagher ve Segal, 2011).



Şekil 2.2. İletilen vazodilatasyon

Kas Pompası

Kas kontraksiyonu venöz damarlar üzerinde bir baskı yaratır. Ritmik kasılmaların pompa etkisi ve venöz kapakçıkların yönü nedeniyle kan kalbe doğru yönlendirilir. Böylece arteriyo-venöz basınç farkı artar (Rowell, 2004). Statik kas kontraksiyonları ve dinamik egzersizin kontraksiyon periyodu sırasında, mekanik baskıdan ve kas içindeki damarların şeklindeki kıvrılma, bükülmeden dolayı kas kan akımı geçici olarak engellenir. Kas kontraksiyonu sayesinde venlerin boşalmasından dolayı venöz basınçta azalma meydana gelir. Bu da kanın, arterlerden basınç ve hacmin düştüğü venöz segmentlere doğru akışını sağlar. Kontraksiyonun mekanik etkisi, kanın kas boyunca ileriye itilmesini sağlar. Kas gevşemesi sırasındaki mekanik dengeleyici güç venlerde negatif luminal basınç yaratır. Bu sebeple artan sürücü basınç gradiyenti kas boyunca akımın sürdürülmesini sağlar (Clifford ve Hellsten, 2004; Rowell, 2004).

Miyojenik Vasküler Kontrol

Damar içi basıncın artması durumunda mekanik strese duyarlı olan düz kas hücre membranındaki gerim-duyarlı Ca^{++} kanalları aktive olur ve Ca^{++} hücre içine girer dolayısıyla vazokonstriksiyon olur. Böylece lokal kan akımı sabit tutulmaya çalışılır. Egzersiz sırasında interstitial basınç artar, böylece transmural basınç düşer, transmural basıncın düşmesi vasküler duvar gerimini azaltır ve miyojenik dilatasyon meydana gelir. Bayliss 1902’de (Bayliss, 1902) düz kas kontraktilesi ve vasküler rezistansın transmural basınçtaki değişimlere hassas olduğunu açıklamıştır. Bayliss’in bu teorisine göre transmural basınçtaki artış vasküler düz kas kontraksiyonuna neden

olur ve vasküler rezistans artar. Oysa ki transmural basınçtaki düşüş düz kasın gevşemesine ve vasküler direncin düşmesine neden olur. Egzersiz sırasında kas kontraksiyonundan dolayı oluşan mekanik basınç, direnç damarlarının tonusunu etkiler. Kontraksiyonun şiddetine bağlı olarak vazodilatasyonun büyüklüğü dereceli bir yanıt gösterir. Bununla birlikte kas kontraksiyonu şiddetiyle orantılı olarak intertisyel basınç ta artar. Bu değişiklikler transmural basıncı düşürür ve böylece myojenik dilatasyona neden olur (Korthuis, 2011).

Eritrosit Aracılı Vazodilatasyon

Uzun süre önce Forrester ve arkadaşları tarafından egzersiz sırasında venöz ATP’de artış olduğu ortaya konduğunda, ATP’nin kaynağı henüz tanımlanmamıştı (Forrester ve Lind, 1969; Forrester, 1972). Günümüzde bir çok hücreden salındığı bilinen (Praetorius ve Leipziger, 2009) ATP’nin eritrositlerden de salınımının gerçekleştiği hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda gösterilmiştir (Bergfeld ve Forrester, 1992; Gonzalez-Alonso ve ark., 2002; Gonzalez-Alonso, 2012). Eritrosit kaynaklı ATP vasküler tonusun düzenlenmesinde görev almaktadır ve lokal vazodilatasyonun eritrositlerin varlığına bağlı olduğu gösterilmiştir (Dietrich ve ark., 2000). Egzersiz sırasında eritrositten ATP salınımının artması sonucunda kas kan akımında artış olduğu belirtilmiştir (Gonzalez-Alonso ve ark., 2002; Gonzalez-Alonso, 2012; Mairbaurl, 2013). Ritmik kas kontraksiyonları sırasında eritrositin mekanik şekil değişikliği nedeniyle ve ayrıca azalmış hemoglobin satürasyonu (hipoksik koşullarda) sonucunda eritrositten ATP salınır (Gonzalez-Alonso ve ark., 2002; Ellsworth ve ark., 2009; Sarelius ve Pohl, 2010). ATP endoteldeki P2Y tipindeki reseptörüne bağlanarak endotelden NO, PG (prostaglandin) ve EDHF gibi vazodilatörlerin salınmasına neden olur (Clifford ve Hellsten, 2004; Sprague ve Ellsworth, 2012).

2.1.2. Merkezi Kontrol Mekanizmaları

Merkezi kontrol mekanizmaları egzersiz sırasında sistemik vasküler homeostazisi sağlamak için kalp aktivitesini ve bölgesel vasküler tonusu düzenlemekten sorumludurlar (Delp ve Laughlin, 1998).

Nöral mekanizlardan biri kas kontraksiyonu sırasında motor sinirlerden salınan asetilkolinin motor sinirlerin yakınındaki kan damarlarında (Pierzga ve Segal, 1994) vazodilatasyona neden olmasıdır (Welsh ve Segal, 1997). Ancak bu durum yeterice

açık değildir. Muskarinik reseptör inhibisyonunun iskelet kasında vazodilatasyonu engellediğinin deney hayvanlarında gösterilmesine rağmen (Welsh ve Segal, 1997), insanlarda reseptör inhibisyonu kan akımını arttırmıştır (Dyke ve ark., 1998). Bu sonuçlar, motor sinirlerden asetilkolin salınımının, muhtemelen insan iskelet kasındaki egzersiz hiperemisi için önemli bir katkı sağlamadığını göstermektedir.

Diğer bir mekanizma sempatik kolinerjik liflerin egzersiz hiperemisinde görev aldığıdır. Bülbring ve Burn, iskelet kasında sempatik kolinerjik sinirin kedi ve köpekte vazodilatasyona katkıda bulunduğunu bildirmiştir [67]. Yine kedilerde sempatik vazodilatör liflerin egzersizin başlangıcında kan akımında artışa yol açtığı gösterilmiştir [68]. Histolojik olarak sempatik kolinerjik sinirlerin, kedi, köpek, koyun gibi çeşitli türlerde iskelet kası kan damarlarını inerve ettiği, sıçan ve fare kas damarlarında ise sempatik kolinerjik innervasyon bulunmadığı doğrulanmıştır (Bolme ve Fuxe, 1970; Guidry ve Landis, 2000; Matsukawa ve ark., 2013). İnsan ve maymun iskelet kasında ise sempatik kolinerjik sinirlerin varlığına dair bir kanıt yoktur (Bolme ve Fuxe, 1970). İnsanlarda kas vasküler yatağı için sempatik vazodilatör mekanizma genellikle kabul edilmemektedir. Çünkü cerrahi sempatektomi, otonom blokaj ve sempatik sinirlerin lokal anestezisi kasların vazodilatasyonu üzerinde önemli bir etkiye neden olmamaktadır (Matsukawa ve ark., 2013).

Henüz net olarak ortaya konmamış bu iki nöral mekanizmanın yanı sıra, iskelet kasında vasküler direncin sinirsel kontrolü öncelikle sempatik sinir sistemi tarafından sağlanmaktadır. Egzersizin başında beyinden kaslara yalnızca kasılma emrini sağlayan sinyaller iletilmekle kalmaz, aynı zamanda kasılmanın şiddeti ve kasılmaya katılan kas kütesine bağlı olarak sempatik aktivite artarken parasempatik aktivite azalmaktadır (Thomas ve Segal, 2004). Egzersizle sempatik aktivitedeki artış üç ayrı sistem ve bunların arasındaki etkileşim sonucu belirlenmektedir. Bunlar 1) serebral korteksten köken alan nöronal sinyal ("central command" olarak bilinir), 2) arteriyal barorefleks ve 3) egzersiz yapan kaslardaki mekanosensitif ve metabosensitif aferent sinir uçlarının uyarımından kaynaklanan reflekslerdir ("exercise pressor reflex" olarak bilinir) (Delp ve O'Leary, 2004; Thomas ve Segal, 2004). Sonuç olarak egzersizle artan sempatik deşarj kalp hızında ve kalbin pompalama gücünde artışa ve periferik dolaşım arteriyollerinin güçlü şekilde kasılmasına yol açmaktadır. Böylece

kas dışı dokulara olan kan akımı azaltılarak bu bölgenin kanı geçici olarak kaslara yönlendirilir (Dipla ve ark., 2012; Spranger ve ark., 2015).

Egzersiz sırasında iskelet kasının kasılmasına bağlı olarak oluşan bazı sinyallerin sempatik sinir liflerinden kaynaklanan uyarıyı engellediği bilinmektedir. İşte bu yüzden egzersiz sırasında diğer dokuların aksine iskelet kası kan akımının arttığı görülür. Egzersiz sırasında sempatik sistemin vazokonstriktör etkisinin çizgili kas damarlarında görülmemesine “*fonksiyonel sempatolizis*” denir (Remensnyder ve ark., 1962; Delp ve Laughlin, 1998; Dipla ve ark., 2012).

Fonksiyonel sempatolizis uzun yıllardan beri bilinmesine rağmen henüz nasıl gerçekleştiğine dair kesin bir mekanizma yoktur (Buckwalter ve Clifford, 2001). Sempatik kolinerjik liflerin, epinefrin, ATP, NO ve EDHF’nin sempatolitik etkiden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Saltin ve Mortensen, 2012). Sempatik noradrenerjik aktivite aktif kasta vazokonstriktör etkilerini sürdürmektedir. Örneğin akut lumbar sempatektomi sonucu sempatik nöral etkilerin ortadan kaldırılmasıyla, sıçanlardaki arka bacak kan akımı düşük şiddetli egzersiz sırasında daha yüksek bulunmuştur (Peterson ve ark., 1988). Bu sonuçlar düşük şiddetli egzersiz sırasında bile sempatik vazokonstriksiyonla metabolik vazodilatasyon arasında bir yarışın varlığına işaret eder. Fakat lokal faktörlerle belirgin olarak sempatik noradrenerjik aktivite baskılanır. Egzersiz sırasında sempatik vazokonstriksiyonun sürmesinin nedeni, aktiviteye katılmayan kas gruplarına giden kan akımının azaltılmasıdır. Diğer yandan sempatik kolinerjik vazodilatasyon egzersiz hiperemisindeki cevapta bileşenlerden biri olarak görülse de, egzersizin neden olduğu kan akımı artışının başlıca kas dokusundaki lokal vasküler kontrol sistemleri aracılığıyla gerçekleştiği kabul edilmektedir (Delp ve Laughlin, 1998). Ayrıca sempatik kolinerjik liflerin kas dokusundaki varlığı insanlarda gösterilemediğinden, bu mekanizmanın üstünde halen soru işaretleri vardır (Joyner ve Dietz, 2003). Fonksiyonel sempatolizis için öne sürülen olası mediyatörler şunlardır:

Epinefrin

Sempatik sistem aktive olduğunda adrenal medulla uyarılır ve adrenal medulladan %80 epinefrin, %20 norepinefrin salgınır. Epinefrin sistemik dolaşım ile iskelet kaslarına gelir. Epinefrinin beta reseptörüne bağlanma yüzdesi daha fazladır. cAMP üzerinden düz kasın gevşemesini sağlar. İskelet kası kan damarlarında alfa reseptör

sayısı daha fazladır. Bu yüzden de sempatolizisi tam olarak açıklamadığı görülmektedir.

ATP

ATP'nin iskelet kası kan akımının regülasyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Aktif iskelet kasının arteriyel ve venöz plazmasında ATP konsantrasyonu artmaktadır (Gonzalez-Alonso ve ark., 2002; Mortensen ve ark., 2011). ATP birçok hücrede üretilmesine rağmen eritrositlerden ATP salınımı egzersiz sırasında önem arz etmektedir (Mairbaur, 2013). Egzersiz yapan kas dokusu oksijene gereksinim duyar ve hemoglobinden oksijen salınımıyla birlikte bir miktarda ATP salınır (Gonzalez-Alonso ve ark., 2002; Gonzalez-Alonso, 2012; Mairbaur, 2013). Bu ATP vasküler endotelyuma difüze olur ve purinerjik reseptörüne bağlanarak vazodilatasyona sebep olur (Sprague ve ark., 2007). Eritrositten salınan ATP'nin miktarı eritrositin saturasyon derecesiyle ilişkilidir. Artan oksijen gereksinimini karşılamak için hemoglobinin daha fazla oksijen bırakması, salınan ATP miktarını da arttırır. Bu durumda vazodilatasyon artışı görülür (Dietrich ve ark., 2000; Sprague ve ark., 2007).

Rosenmeier ve arkadaşları insanlarda yaptıkları çalışmalarında, ATP'nin vazodilatasyona neden olarak ve sempatik vazokonstriktör aktivitenin etkilerini ortadan kaldırarak lokal iskelet kası kan akımını ve O₂ dağıtımını düzenlediğini göstermişlerdir (Rosenmeier ve ark., 2004). Benzer şekilde Kirby ve arkadaşları ATP'nin α -adrenerjik vazokonstriksiyonu doğrudan engellediği ve bu baskılanmanın ATP konsantrasyonlarına bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir (Kirby ve ark., 2008). ATP damar endotelindeki P2Y reseptörleri aracılığıyla NO, PG'ler (Mortensen ve ark., 2009; Crecelius ve ark., 2011) ve EDHF gibi vazodilatörlerin salınmasına neden olarak vazodilatasyonu uyarır (Ellsworth ve ark., 1995; Wihlborg ve ark., 2003; Mortensen ve Saltin, 2014). EDHF'nin vasküler düz kas hücrelerinde ve endotel hücrelerinde ATP bağımlı K kanallarını aktive ettiği bilinmektedir (Brayden, 1990). Bu kanalların egzersiz sırasında α -adrenerjik vazokonstriksiyonun egzersize bağlı azaltılmasında rol oynadığı gösterilmiştir (Thomas ve ark., 1997). ATP bu etkilerinden dolayı sempatolitik etkiden sorumlu tutulmaktadır.

Nitrik Oksit

NO, sempatik vazokonstriksiyona karşı koyarak egzersiz sırasında kan akımının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Thomas ve Victor, 1998). İskelet kası nNOS (nöronal nitrik oksit sentaz)’u tarafından üretilen NO’nun egzersiz sırasında iskelet kası liflerinin yakındaki damarlara difüze olmasının, kas kan akımını düzenlediği düşünülmektedir. İskelet kasından salınan NO, egzersiz sırasında adrenerjik vazokonstriksiyonu azaltarak kas kan akımının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Sander ve ark., 2000; Grange ve ark., 2001). nNOS eksikliğiyle karakterize “Duchenne kas distrofisi” olan çocuklarda egzersiz sırasında fonksiyonel sempatolizisin bozulduğu görülmektedir (Sander ve ark., 2000).

Sistemik NO oluşumunun inhibisyonu ile, egzersiz sırasında sempatik vazokonstriktör aktivite engellenmiş (Chavoshan ve ark., 2002) ancak NO oluşumunun akut olarak lokal inhibisyonu aynı etkiyi göstermemiştir (Dinenno ve Joyner, 2003). NO’nun sempatolitik etkisini gösteren bu çalışmaların yanı sıra, sempatik vazokonstriksiyonun engellenmesinde NO’nun etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin, egzersiz sırasında NOS inhibe edildiğinde egzersiz hiperemisinde herhangi bir değişiklik olmadığı saptanmıştır (Bradley ve ark., 1999; Radegran ve Saltin, 1999; Frandsen ve ark., 2001). Ayrıca NO iskelet kası vazodilatasyonunda PGI₂ gibi diğer maddelerle sinerji içinde hareket edebilmektedir. Bu iki madde birlikte fonksiyonel sempatolizise aracılık eder (Dinenno ve Joyner, 2004; Mortensen ve ark., 2007).

2.2. Düzenli Fiziksel Aktiviteler Sonrasında Kan Damarlarında Görülen

Adaptasyonlar

Egzersiz, kardiyovasküler sistemi etkileyen otonomik ve hemodinamik adaptasyondan kaynaklanan bir dizi fizyolojik reaksiyona neden olur. Egzersiz sırasında görülen lokal ve merkezi kontrol mekanizmalarının yanı sıra (Delp ve Laughlin, 1998; Clifford ve Hellsten, 2004; Delp ve O’Leary, 2004; Thomas ve Segal, 2004; Sarelius ve Pohl, 2010; Hudlicka, 2011; Korthuis, 2011), düzenli fiziksel aktiviteler sonrasında dinlenimde kardiyovasküler sistemde çeşitli adaptasyonlar gözlenmektedir. Özellikle kan basıncındaki değişimler, endotelial adaptasyonlar, vazoaaktif uyaranlara karşı verilen yanıtta değişimler ve damarların yapısal uyumu düzenli egzersiz sonrasında görülen başlıca değişikliklerdir (Higashi

ve Yoshizumi, 2004; Cornelissen ve Fagard, 2005; Vikulov ve ark., 2009; Cornelissen ve Smart, 2013; Green ve ark., 2017).

2.2.1. Egzersizin Kan Basıncına Etkisi

Düzenli fiziksel aktivite sonrasında damarlarda görülen adaptasyonların en önemli göstergelerinden biri kan basıncındaki olası değişimlerdir. Egzersizin hem hipertansif hem de normotansif bireylerde istirahat halindeki kan basıncını düşürdüğü, hipertansif hastalarda daha belirgin bir etkiye sahip olduğu iyi bilinmektedir (Kelley ve ark., 2001; Whelton ve ark., 2002; Cornelissen ve Fagard, 2005; Cornelissen ve Smart, 2013; Huang ve ark., 2013; Semlitsch ve ark., 2013). Bu nedenle aerobik fiziksel aktivite yüksek kan basıncının önlenmesi ve tedavisi için yaşam tarzı modifikasyonlarının önemli bir bileşenini oluşturmaktadır. Düzenli egzersizin kan basıncını düşürücü etkisi uzun yıllardan beri bilinmesine rağmen, bu etkinin altında yatan mekanizmalar hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Fiziksel aktivitenin hipertansiyon gelişimini önleyebileceği öngörülen mekanizmalar Tablo 2.1.'de gösterilmiştir (Diaz ve Shimbo, 2013)

Tablo 2.1. Fiziksel aktivitenin hipertansiyon gelişimini önleyebileceğine dair önerilen mekanizmalar

| | |
|---|---------------------------------------|
| ↓ Vasküler direnç | ↑ Endotel fonksiyonu |
| ↓ Damar sertliği | ↑ İnsülin duyarlılığı/glukoz taşınımı |
| ↓ Oksidatif stres | ↑ Renal fonksiyon |
| ↓ İnflamasyon | ↑ Sodyum taşınımı |
| ↓ Vücut ağırlığı/vücut kitlesi | ↑ Baroreflex duyarlılığı |
| ↓ Sempatik aktivite | ↑ Parasempatik aktivite |
| ↓ Renin-anjiyotensin sistemi | ↑ Anjiyogenez |
| ↓ Vasoaktif uyaranlara cevap verme yeteneği | ↑ Arteriyoenez |
| ↓ İntima-media kalınlığı | ↑ Arteryal kompliyans |
| ↓ Psikolojik stres | ↑ Arteryal lümen çapı |

Kan basıncı, kalbin kanı sistemik dolaşıma pompalamasıyla arteryel sisteme giren kanın arterler üzerinde oluşturduğu basınçtır. Ortalama arter basıncı kardiyak debi ve total periferik direnç (TPR) ile belirlendiğinden, düzenli egzersizden sonra arteryel basınçtaki azalmalar, bu değişkenlerin birinde veya her ikisindeki değişimler ile olmalıdır. Dinlenme kalp debisinde düşüşler, genellikle kronik egzersiz sonrasında beklenen bir durum değildir; bu nedenle azalmış TPR, egzersizden sonra dinlenme

kan basıncındaki düşüşün temel mekanizması olarak görülmektedir (Cornelissen ve Fagard, 2005).

Egzersiz kan basıncını düşürücü etkisinde yaygın mekanizmalardan biri sempatik sinir sistemi aktivitesindeki azalma ve baroreflex duyarlılığındaki artıştır. Sempatik aktivite sonucunda sempatik liflerden noradrenalin salınması, vazokonstriksiyona aracılık eder ve vasküler direnci artırır. Egzersiz sonrası sempatik aktivitedeki düşüş vazokonstriksiyonu azaltır ve kan basıncında azalmaya yol açar (Somers ve ark., 1991; Laterza ve ark., 2007; Mueller, 2007).

Egzersiz sonrası görülen vasküler adaptasyonlar kan basıncında ölçülebilir değişiklikler yaratabilir. Ancak egzersiz önemli vasküler düzenlemelere sebep olsa dahi, bu durum her zaman kan basıncına yansımaz (Kuru ve ark., 2009; Jia ve ark., 2014).

2.2.2. Egzersizde Endotelial Adaptasyonlar

Endotel tabakası damarların iç yüzünü döşeyen tek sıralı yassı hücrelerden meydana gelir. Önceleri mekanik bir bariyer oluşturduğu sanılan endotel tabakasının günümüzde çeşitli faktörler salgılayarak bir çok hücresel olayda görev aldığı bilinmektedir. Vasküler tonusun düzenlenmesinde endotel kaynaklı kasıcı ve gevşetici faktörlerin katkısı çoktur (Furchgott ve Vanhoutte, 1989; Thijssen ve ark., 2008). 1980'den önce, damarın gevşeme ve kasılmasından sorumlu ana mekanizmanın, nörohumoral faktörlerin damar düz kasları üzerinde yaptığı etkiler ile olduğu sanılıyordu. Fakat 1983 yılında Robert F. Furchgott ve arkadaşları tavşan aortu üzerinde yapılan deneyle endotel tabakasının asetilkolin gevşemesi için gerekli olduğunu kanıtladılar (Furchgott ve Zawadzki, 1980). Bir seri araştırma sonucu endotelden salınan NO'nun kardiyovasküler sistemde önemli bir sinyal molekülü olduğu kanıtlandı ve bu keşif Robert F. Furchgott, Louis Ignarro ve Ferid Murad'a 1998 Nobel Fizyoloji ve Tıp Ödülünü getirdi. Böylece endotel tabakasının pasif bir mekanik diffüzyon bariyeri olmanın dışında önemli fizyolojik fonksiyonlarının olduğu ortaya çıkmıştır.

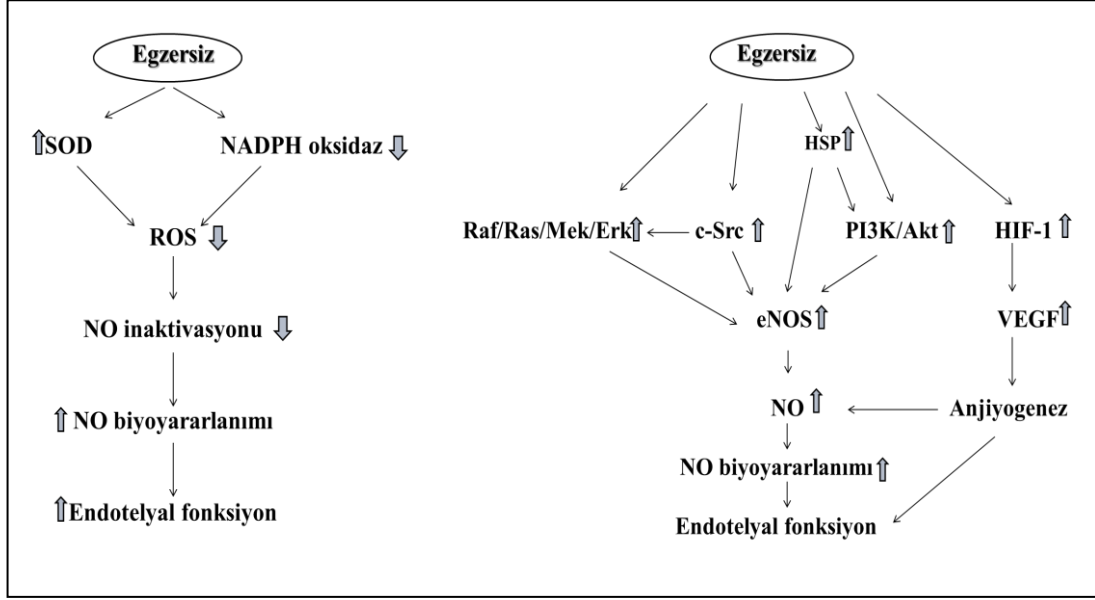
Egzersiz neden olduğu çeşitli sinyaller sonucunda endotelial fenotipte ve gen ekspresyonunda değişiklikler görülmektedir. Bu sinyaller kimyasal sinyaller (örneğin sitokinler, kaslardan salınan metabolitler, nöro-humoral faktörler) olabileceği gibi,

endotel üzerinde etkili olan hemodinamik mekanik sinyaller (örneğin kayma gerilimi, kan basıncı ve gerilme; çevresel stres) de olabilir . Özellikle tekrarlanan egzersiz nedeniyle kan akımına bağlı değişiklikler kayma gerilimini etkiler ve endotel hücrelerde çeşitli genlerin ekspresyonuna neden olur (Whyte ve Laughlin, 2010).

Düzenli fiziksel egzersizin en önemli moleküler sonuçlarından biri, vasküler NO konsantrasyonunun artmasıdır. NO'nun vazodilatör etkisi periferik direncin düşürülmesine ve perfüzyonun artmasına neden olmaktadır (Schuler ve ark., 2013). Fiziksel aktivite hem hayvanlarda hem de insanlarda NO üretiminden sorumlu enzim eNOS vasküler ekspresyonunu arttırmaktadır (Kojda ve ark., 2001; Hambrecht ve ark., 2003; Golbidi ve Laher, 2012). Aynı zamanda artan kayma geriliminin hücre kültüründe (Boo ve ark., 2002), egzersizin hayvan veya insan çalışmalarında eNOS aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (Woodman ve ark., 1997; Hambrecht ve ark., 2003). Bununla birlikte, egzersizle artan kayma geriliminin artan eNOS aktivitesini nasıl sağladığı açık değildir. Ancak öngörülen mekanizmalar bulunmaktadır. Endotel sanki bir mekanotransduser gibi davranır ve endotel hücrelerinin luminal tarafında glikokaliksin deformasyonu ile doğrudan sinyal oluşabilir. Glikokaliksle ilişkili vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptör2, fosfadidilinositol 3-kinaz/AKT (PI3K/AKT)'yi aktive edebilir. Böylece AKT aracılı eNOS fosforilasyonu, NO üretimine yol açar. Bu mekanizmaya ilaveten glikokaliks deformasyonu kalsiyum iyon kanallarının aktivasyonuna neden olur. Hücre içinde artan kalsiyum, fosfolipaz A2 aktivasyonuna yol açarak siklooksinejaz tarafından PGI₂ salınımına neden olur. Bir diğer yol ise, kayma gerilimi sinyali bazal endotelyal yüzeyde hücre iskeleti aracılığıyla adezyon bölgelerine iletilir. Burada integrinler aracılığıyla Ras-MAPK (Ras-mitojen aktive protein kinaz) aktivasyonu gerçekleşir ve sonuçta eNOS da dahil olmak üzere çeşitli genlerin ekspresyonu artar (Gielen ve ark., 2010; Whyte ve Laughlin, 2010).

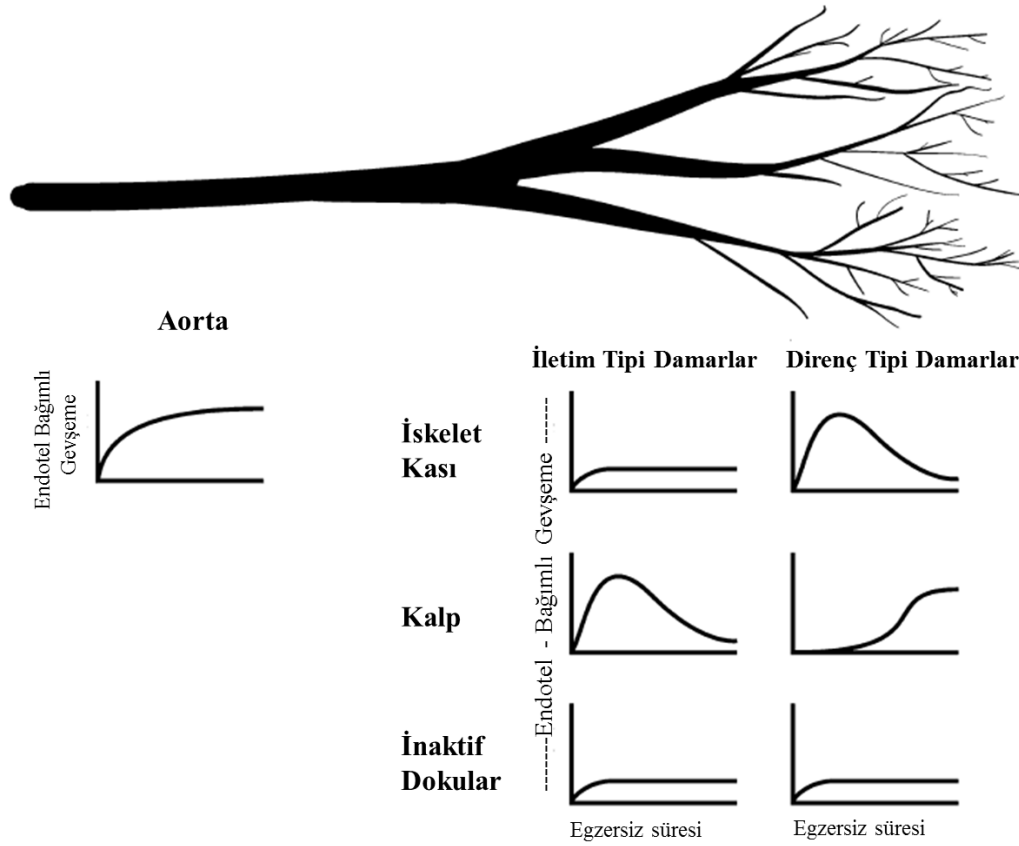
Egzersiz endotelyal fonksiyonlar üzerine olumlu etkileri NO biyoyaralanımını arttırarak da gösterir. Egzersiz süper oksit dismutazda artışa, NADH/NADPH oksidaz aktivitesinde düşüşe neden olarak reaktif oksijen türleri (ROS) miktarını azaltır. Böylece NO inaktivasyonu azaltılarak NO biyoyaralanımı arttırılmış olur. Ayrıca egzersiz c-Src, Raf/Ras/Mek/Erk ve HSP-PI3K/Akt üzerinden eNOS

ekspresyonunda artışa, hipoksiyle indüklenen faktör-1 (HIF-1)'in uyardığı vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) üzerinden anjiyogeneze neden olarak NO üretimini, dolayısıyla NO biyoyararlanımını uyarır (Higashi ve Yoshizumi, 2004) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Egzersizde NO biyoyararlanımı

Egzersize cevaben oluşan endotel yanıtı karmaşıktır ve egzersiz programının süresi ve şiddeti, arter/arteriyol boyutu, arter/arteriyol'un anatomik lokasyonu ve bireyin sağlığı gibi bir çok faktöre bağlıdır. Egzersiz sonrasında çeşitli damar yataklarında endotel bağımlı gevşemede (EBG) görülen değişiklikler Şekil 2.4.'de özetlenmiştir. Aortada dört haftalık kısa vadeli egzersiz sonunda EBG'de artış saptanır. Bu etki antreman devam ettiği sürece uzun vadede de gözlenmektedir. İskelet kasını veya inaktif dokuları besleyen iletim tipi arterlerde egzersize bağlı EBG'de belirgin bir değişiklik saptanmaz. Koroner arterlerde kısa süreli egzersizde artış saptanırken, damarlardaki yeniden yapısal düzenlenmeden dolayı uzun vadeli egzersiz sonucunda EBG normale dönmüştür. Koroner direnç arterlerinde kısa vadeli egzersizde olmasa da uzun vadeli egzersiz sonunda EBG'de artış görülmektedir. İnaktif dokulardaki direnç arterlerinde, kısa veya uzun vadeli egzersizden sonra EBG'de belirgin artışlar gözlenmez. İskelet kası direnç arterlerinde ise kısa vadeli egzersiz sonunda EBG'de artış görülürken, bu artış damarlardaki yeniden yapısal düzenlenmeden dolayı uzun süreli egzersiz sonrasında kaybolmaktadır. (Jasperse ve Laughlin, 2006).



Şekil 2.4. Egzersiz sonucunda görülen endotel bağımlı gevşeme üzerine organ, damar boyutu ve egzersiz süresinin etkisi. Endotel fonksiyonunda bazal değer üzerindeki küçük bir sapma az veya tutarsız artışlar olduğunu gösterir. Bazal değer üzerinde görülen büyük sapma ise endotel fonksiyonunda daha büyük ve tutarlı artışlar olduğunu işaret eder.

2.2.3. Egzersizde Damar Düz Kasının Vazodilatör ve Vazokonstriktör Uyarılara Yanıtı

Vazokonstriktör ve vazodilatör uyarıların dengesiyle vasküler tonus düzenlenmektedir (Vikulov ve ark., 2009; Sandoo ve ark., 2010). Ancak oluşan cevap sadece dış etkilere bağlı olmayıp vasküler duvarın yanıt verme kapasitesi ile ilişkilidir. Literatürde egzersizin vasküler tonus üzerine etkilerini inceleyen çok sayıda çalışmada bulunmaktadır. Vazodilatör ya da vazokonstriktör yanıtların egzersiz sonucu nasıl değiştiğine ilişkin veriler; denek, damar tipi ve incelenen madde dikkate alınarak Tablo 2.2.'de özetlenmiştir. Düzenli yapılan fiziksel aktiviteler sonucu vazoaaktif uyarılara karşı damar yanıtları çeşiklilik gösterse de, özellikle damar düz kasının çeşitli vazodilatör uyarılara karşı gevşeme yanıtının arttığı, vazokonstriktör uyarılara karşı ise kasılma yanıtının azaldığı belirgin olarak göze çarpmaktadır.

Pek çok çalışma egzersizdeki direnç damarlarının endotelinde NO başta olmak üzere gevşetici maddelerin salgılarında artış olması yanında, damar düz kasının vazokonstriktör uyarılara karşı yanıtının azaldığını göstermiştir. (Chen ve Chiang, 1996; Lash, 1998; Green ve ark., 2004; Thijssen ve ark., 2008; Di Francescomarino ve ark., 2009). Düzenli yapılan fiziksel aktivitelerin NO biyoyararlanımını arttırdığı (Kingwell, 2000; Sugawara ve ark., 2007; Thijssen ve ark., 2010) akım aracılı vazodilatasyonu (Sun ve ark., 1998; Adams ve ark., 2005) ve asetilkolin aracılı endotel bağımlı gevşeme yanıtını (Johnson ve ark., 2001; Goto ve ark., 2003) arttırdığı bilinmektedir. NO sistemindeki değişikliklerden başka egzersizin kas sempatik sinir sistemi aktivitesini ve noradrenalin salınımını azalttığı, ayrıca endotelin-1 (ET-1)'e duyarlılığı düşürdüğü ve anjiyotensin II (Ang II) ile uyarılan vazokonstriksiyonu azalttığı bilinmektedir (Jones ve ark., 1999; Symons ve ark., 2000; Adams ve ark., 2005; Thijssen ve ark., 2008; Thijssen ve ark., 2010). Ayrıca egzersiz sonrası iskelet kasından alınan diyalizatlarda tromboksan ve ATP düzeyinde azalma, PGI₂ düzeyinde ise artış saptanmıştır (Hansen ve ark., 2011).

Tablo 2.2. Egzersizde çeşitli damar tiplerinin vazodilatör ve vazokonstriktör uyarılara yanıtı

| Araştırma | Denek | Damar Tipi | İncelenen Madde | Sonuç |
|-----------------------------------|--------|-----------------|-----------------------------------|--|
| <i>İletim tip arterler</i> | | | | |
| (Jansakul, 1995) | Sıçan | Torasik aorta | Vazokonstriktör Phe | Kontrole göre kasılma yanıtında azalma |
| (Chen ve ark., 1994) | Tavşan | Torasik aorta | Vazokonstriktör NA | Kontrole göre kasılma yanıtında azalma |
| (Izawa ve ark., 1995) | Sıçan | Torasik aorta | Vazokonstriktör Ang II | Kontrole göre kasılma yanıtında azalma |
| (Chen ve ark., 2001) | Sıçan | Torasik aorta | Vazokonstriktör PGF _{2α} | Kontrole göre kasılma yanıtında azalma |
| (Chen Hi ve ark., 1996) | Sıçan | Torasik aorta | Vazodilatör Ach | Kontrole göre gevşeme yanıtında artış |
| (Chen ve ark., 2001) | Sıçan | Torasik aorta | Vazodilatör Ach | Kontrole göre gevşeme yanıtında artış |
| (Spier ve ark., 1999) | Sıçan | Abdominal aorta | Vazokonstriktör Vaz | Kontrole göre kasılma yanıtında artış |
| (Delp ve ark., 1993) | Sıçan | Abdominal aorta | Vazokonstriktör KCl, Phe | Kontrole göre kasılma yanıtında azalma |

| | | | | |
|-----------------------------|-------------|------------------------------|------------------------|---|
| (Delp ve ark., 1993) | Sıçan | Abdominal aorta | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |
| (Kashimura ve ark., 1995) | Sıçan | Pulmoner arter | Vazokonstriktör Ang II | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Johnson ve Laughlin, 2000) | Domuz | Pulmoner arter | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Adams ve ark., 2005). | İnsan (CAD) | Sol internal mamariyal arter | Vazokonstriktör Ang II | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Adams ve ark., 2005). | İnsan (CAD) | Sol internal mamariyal arter | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |
| (Kemi ve ark., 2004) | Sıçan | Karotid arter | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |

İskelet Kası Damarları

| | | | | |
|--------------------------|-----------------------|--|--------------------------|---|
| (Donato ve ark., 2007). | Sıçan | Gastrokinemius kası arteriyolü | Vazokonstriktör NA | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Donato ve ark., 2007). | Sıçan (yaşlı) | Gastrokinemius ve soleus kası arteriyolü | Vazokonstriktör NA | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Laughlin ve ark., 2004) | Sıçan | Gastrokinemius kası arteri | Vazokonstriktör Phe | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Thijssen ve ark., 2007) | İnsan | Bacak kan akımı | Vazokonstriktör ET-1 | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Donato ve ark., 2005) | Sıçan (Genç ve,yaşlı) | Gastrokinemius kası arteriyolü | Vazokonstriktör KCl | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Brothers ve ark., 2006) | İnsan | Femoral arter | Vazokonstriktör Ang II | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Donato ve ark., 2007). | Sıçan | Soleus kası arteriyolü | Vazokonstriktör NA | Kontrolle göre kasılma yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Park ve ark., 2012) | Sıçan | Gastrokinemius ve soleus kası arteriyolü | Vazokonstriktör Ang II | Kontrolle göre kasılma yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Donato ve ark., 2005) | Sıçan (Genç ve yaşlı) | Gastrokinemius ve soleus kası arteriyolü | Vazokonstriktör ET-1 | Kontrolle göre kasılma yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Laughlin ve ark., 2004) | Sıçan | Gastrokinemius kası arteriyoller | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |
| (Sun ve ark., 1998) | Sıçan | Plantaris kası arteriyolü | Vazodilatör Akım aracılı | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |
| (Behnke ve ark., 2012) | Sıçan | Gastrokinemius Kası arteriyolü | Vazodilatör Akım aracılı | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |

| | | | | |
|-------------------------------|-------|-----------------------------------|---|---|
| (Ghosh ve ark., 2015) | Sıçan | Solues kasiarteriyolu | Vazodilatör Akım aracılı | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |
| (Maiorana ve ark., 2000) | İnsan | Ön kol arteri | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |
| (Bank ve ark., 1998) | İnsan | Ön kol arteri | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |
| (Landers-Ramos ve ark., 2016) | İnsan | Brakiyel arter | Vazodilatör Akım aracılı | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |
| (Van Guilden ve ark., 2007) | İnsan | Ön kol arteri | Vazokonstriktör ET-1 | Kontrolle göre kasılma yanıtında artış |
| (Van Guilden ve ark., 2007) | İnsan | Ön kol arteri | Vazokonstriktör NA | Kontrolle göre kasılma yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (McAllister ve ark., 1996) | Domuz | Femoral ve Brakiyel arter | Vazokonstriktör NA ve KCl | Kontrolle göre kasılma yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (McAllister ve ark., 1996) | Domuz | Femoral ve Brakiyel arter | Vazodilatör , SNP, adenozin, bradikinin ve kalsiyum iyonoforu | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (McAllister ve ark., 2005) | Sıçan | Gastrokinemius kası arteriyolları | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Laughlin ve ark., 2004) | Sıçan | Gastrokinemius kası arteriyolları | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Jasperse ve ark., 1999) | Sıçan | Soleus arteri | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |

Koroner Damarlar

| | | | | |
|-----------------------------|----------------|-----------------------|--|---|
| (Jones ve ark., 1999) | Domuz | Koroner direnç damarı | Vazokonstriktör ET-1 | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Symons ve ark., 2000) | Sıçan | Koroner direnç damarı | Vazokonstriktör ET-1, U-46619 | Kontrolle göre kasılma yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Symons ve ark., 2000) | Sıçan (iskemi) | Koroner direnç damarı | Vazokonstriktör ET-1, U-46619 | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Symons ve ark., 2000) | Sıçan | Koroner direnç damarı | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Muller-Delp ve ark., 2017) | Sıçan | Koroner direnç damarı | Vazokonstriktör U-46619 | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Roque ve ark., 2013) | Sıçan (SHR) | Koroner arter | Vazodilatör İntraluminal basınç artışı | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |

| | | | | |
|-----------------------|-------------|---------------|--------------------|---|
| (Roque ve ark., 2013) | Sıçan (SHR) | Koroner arter | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |
| (Roque ve ark., 2013) | Sıçan (SHR) | Koroner arter | Vazodilatör DEA-NO | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Wang ve ark., 1993) | Köpek | Koroner arter | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |

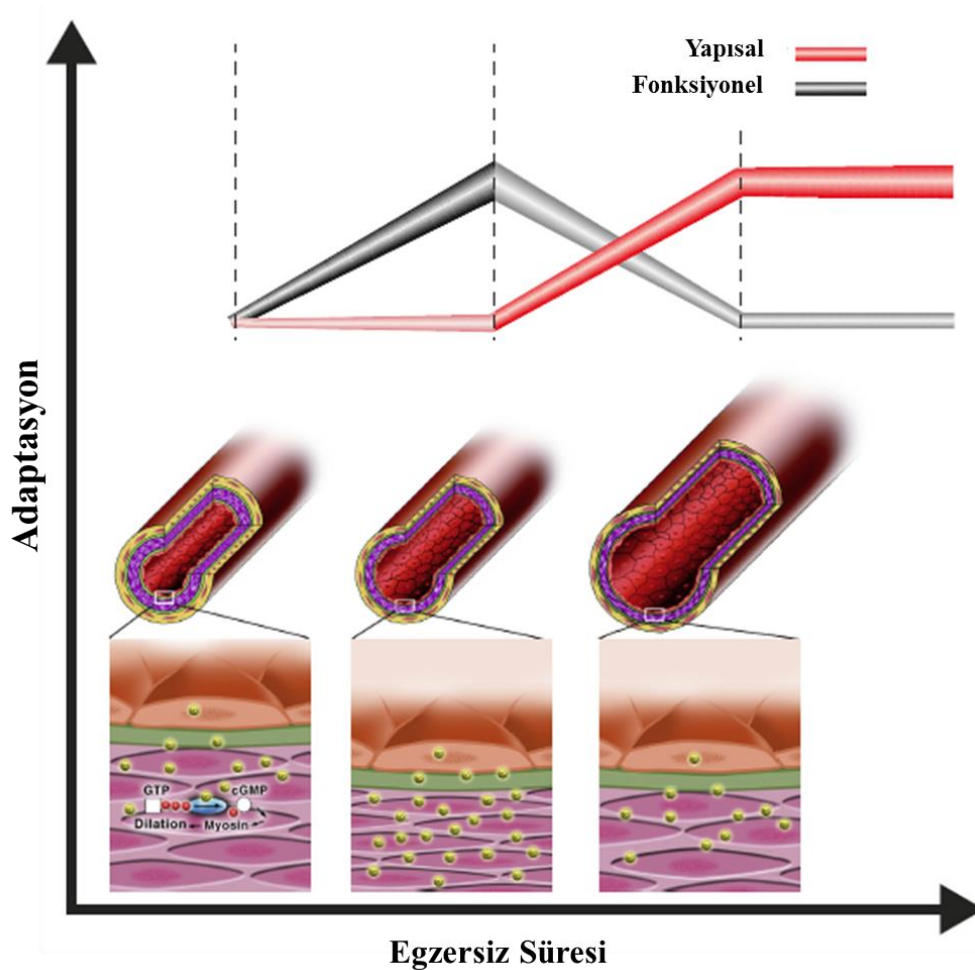
Egzersizde inaktif damar yatakları

| | | | | |
|----------------------------|-------------|-----------------------------|---|---|
| (Chies ve ark., 2004). | Sıçan | Süperior mesenterik arter | Vazokonstriktör Phe | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Kuru ve ark., 2009) | Sıçan | Renal direnç damarı | Vazokonstriktör NA | Kontrolle göre kasılma yanıtında artış |
| (Kuru ve ark., 2009) | Sıçan | Renal direnç damarı | Vazokonstriktör ET-1, tromboksan A2 ve vazopresin | Kontrolle göre kasılma yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Kuru ve ark., 2009) | Sıçan | Renal direnç damarı | Vazodilatör Ach, bradikinin, adenosin, isoproterenol ve SNP | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (McAllister ve ark., 1996) | Domuz | Renal arter | Vazokonstriktör NA | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (McAllister ve ark., 1996) | Domuz | Mezenterik ve hepatik arter | Vazokonstriktör NA | Kontrolle göre kasılma yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Roque ve ark., 2013) | Sıçan (SHR) | Mezenterik arter | Gevşeme intraluminal basınç artışına | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Roque ve ark., 2013) | Sıçan (SHR) | Mezenterik arter | Vazokonstriktör U-46619 | Kontrolle göre kasılma yanıtında azalma |
| (Roque ve ark., 2013) | Sıçan (SHR) | Mezenterik arter | Vazodilatör Ach, NO donörü | Kontrolle göre gevşeme yanıtında değişiklik saptanmamış |
| (Chen ve ark., 2001) | Sıçan | Mezenterik arter | Vazodilatör Ach | Kontrolle göre gevşeme yanıtında artış |

2.2.4. Egzersizde Damarların Yapısal Uyumu.

Hayvan ve insanlardan elde edilen veriler, egzersiz sonucunda gerçekleşen damarlardaki fonksiyonel ve yapısal adaptasyonun zamana bağlı olarak değişiklik gösterdiğini desteklemektedir (Green ve ark., 2004). Sağlıklı sıçanlarda, 1-4 haftalık egzersiz antrenmanı sonucu, iletim tipi arterlerde (McAllister ve Laughlin, 1997), kas arteriyollerinde (Sun ve ark., 1994), aortda (Delp ve Laughlin, 1997) vazodilatasyonda artış görülmektedir ve pulmoner arterlerde artmış eNOS

ekspresyonu saptanmıştır (Johnson ve ark., 2001). Aksine, 16-20 haftalık egzersiz uygulanan çalışmalarda ise, artmış endotel fonksiyonları (McAllister ve ark., 1996; Johnson ve Laughlin, 2000) genellikle geriye dönmektedir. Bununla birlikte, daha uzun süre yapılan egzersizde arteriyel çapın genişlemesi sıklıkla gözlenen bir durumdur (Green ve ark., 2004; Green ve ark., 2017). Bu gözlemlere dayanarak, şöyle bir sonuca varılmaktadır (Şekil 2.5.): Orta vadeli bir egzersiz programında artan eNOS ekspresyonu ve NO üretimi sonucunda kayma gerilimindeki artışın önüne geçilir. Oysa uzun vadeli egzersizi takiben çap artışı gibi yapısal adaptasyonlar meydana gelir. Damar çapının artışı sonucunda kayma gerilimi yapısal olarak normalize edilir ve eNOS fonksiyonları bazal düzeye geri döner (Green ve ark., 2004; Thijssen ve ark., 2010; Green ve ark., 2017).

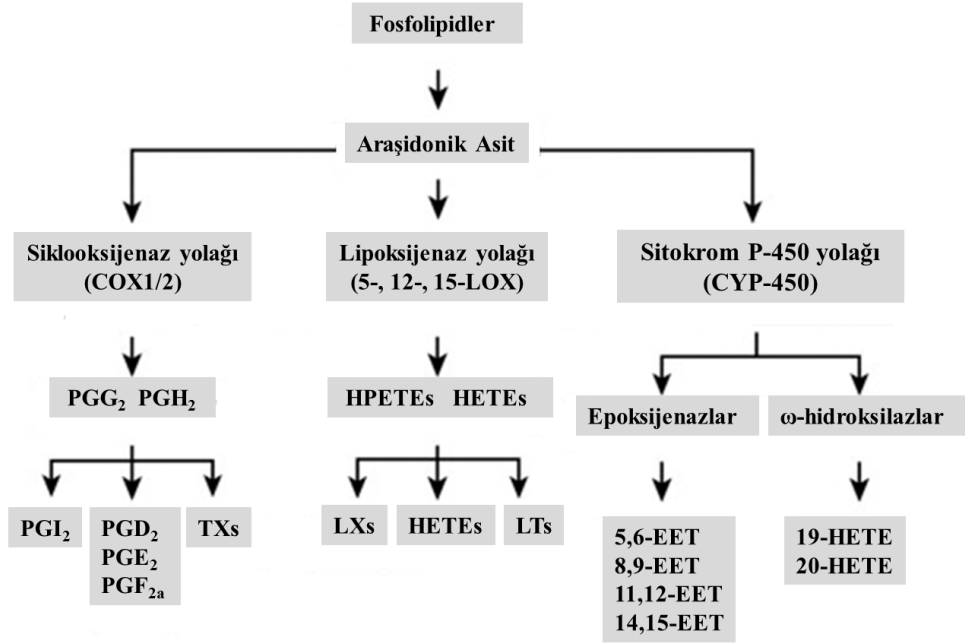


Şekil 2.5. Egzersizde vasküler fonksiyon ve yapıda görülen zamana bağlı değişiklikler

2.3. 20-HETE (20-Hydroxyeicosatetraenoic acid)

2.3.1. Araşidonik Asit Metabolitleri

Araşidonik asit (AA) yirmi karbonlu uzun zincirli doymamış bir yağ asidi olup, membran fosfolipid havuzunun bir bölümünü oluşturur. Büyüme faktörleri, hormonlar veya sitokinler gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik sinyaller ve noradrenalin, anjiyotensin II ve bradikinin gibi çeşitli agonistler aracılığıyla fosfolipaz A2 aktivasyonu sonucu AA serbest hale geçer. Daha sonra AA farklı eikosanoidlere dönüştürülebilir (Şekil 2.6.) (Yuan ve ark., 2014). AA üç ana yolağa metabolize olabilir. Bunlar: siklooksijenaz (COX), lipooksijenaz (LOX) ve sitokrom P450 (CYP) yolaklarıdır (Mukherjee ve ark., 1994; Harizi ve ark., 2008). AA, COX ve LOX enzimleri tarafından PGI_2 , PG, tromboksan, 5-, 12-, 15-HETE'ler ve lökotrienlere dönüşür. Bu ürünler renal ve pulmoner fonksiyonlar, vasküler tonus ve inflamatuvar yanıtları düzenlerler (Capdevila ve Falck, 2002; Roman, 2002; Harizi ve ark., 2008; Claar ve ark., 2015). Üçüncü yolak olan CYP yolağının ise başlangıçta yalnızca yağ asitlerinin hepatik metabolizmasında görev aldığı düşünülürken, artık AA'nın pek çok dokuda CYP enzimleri tarafından metabolize olduğu bilinmektedir (Fan ve ark., 2016). CYP ailesine ait epoksijenaz enzimleri tarafından AA'dan epoksieikosatrienoik asitler (5,6-EET, 8,9-EET, 11,12-EET, ve 14,15-EET) oluşurken, hidroksilaz enzimleri tarafından ise hidroksieikosatetraenoik asitler (7-, 8-, 9-, 10-, 12-, 13-, 15-, 16-, 17-, 18-, 19 ve 20-HETE) oluşur. EET'ler soluble epoksid hidroksilazlar tarafından dihidroksieikosatetraenoik asitlere de (diHETE) metabolize olabilir (Zeldin, 2001; Roman, 2002).



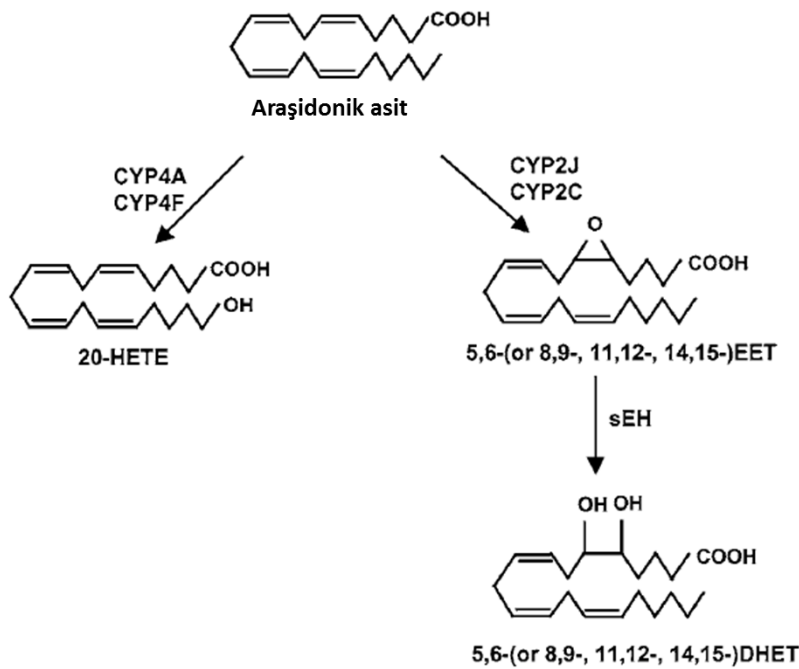
Şekil 2.6. Araşidonik asit (AA) metabolizması (Yuan ve ark., 2014)

2.3.2. 20-HETE Biyosentezi

CYP enzimleri türe ve dokuya bağlı olarak araşidonik asidi pek çok eikosanoide metabolize edebilir. Çoğu dokudaki başlıca ürün ise 20-HETE ve EET'lerdir. 20-HETE, CYP4A ve CYP4F subfamilyalarının CYP ω –hidroksilazları tarafından araşidonik asitten üretilir (Şekil 2.7.). CYP ω –hidroksilazlar, fosfolipaz A2 aracılığıyla hücre membranından serbest hale geçen araşidonik asidin terminal sp3 karbonuna hidroksil gurubu eklerler (Harder ve ark., 1994; Harder ve ark., 2011). (O'Donnell ve ark., 2009; Hoopes ve ark., 2015). Araşidonik asit CYP4A ve CYP4F ailesine ait enzimler tarafından karaciğer (Ito ve ark., 2006; Antoun ve ark., 2008), böbrek (Escalante ve ark., 1991; Omata ve ark., 1992; Ito ve ark., 1998; Ito ve Roman, 1999), kalp (Yousif ve ark., 2009; Zordoky ve ark., 2010), akciğer (Knickle ve Bend, 1994; Birks ve ark., 1997; Zhu ve ark., 1998; Zhu ve ark., 2000), beyin (Harder ve ark., 1994; Gebremedhin ve ark., 2000; Renic ve ark., 2009) ve vasküler dokuda (Harder ve ark., 1994; Imig ve ark., 1996; Sun ve ark., 1998; Croft ve ark., 2000; Gebremedhin ve ark., 2000; Carroll ve ark., 2001; Renic ve ark., 2009) 20-HETE'ye metbolize edilir. 20-HETE'nin üretilmesinden sorumlu CYP4A/CYP4F'nin birçok izoformu vardır. İnsanlarda, bu izoformlar CYP4A11, CYP4A22, CYP4F2 ve CYP4F3'tür. İnsanlarda baskın olan CYP4F2, ardından CYP4A11'dir. CYP4F2 lökositler ve böbreklerde yüksek aktivite sergilemektedir. Farelerde ise 20-HETE üreten enzimler CYP4A10 ve CYP4A12'dir. CYP4A12 birincil olarak 20-HETE

üreten enzimdir. Sıçanlarda, 20-HETE üreten enzimler arasında CYP4A1, CYP4A2, CYP4A3 ve CYP4A8 bulunmaktadır. 20-HETE sıçanlarda böbrek, akciğer, karaciğer, vasküler doku, beyin gibi çeşitli dokularda sentezlenir. Tavşanda ise CYP4A6 ve CYP4A7 tarafından böbrek ve karaciğerde 20-HETE üretilir (Roman, 2002; Williams ve ark., 2010; Hoopes ve ark., 2015).

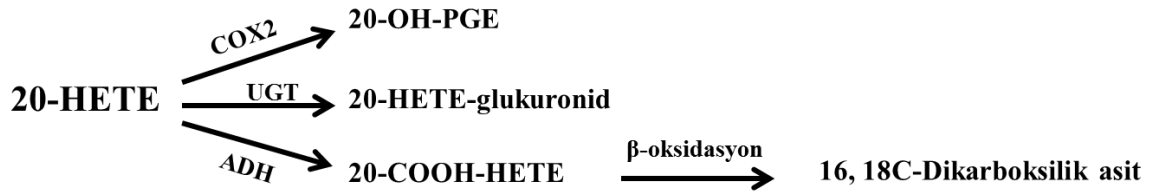
20-HETE'nin vasküler sentezi ve salınımı öncelikle vasküler düz kas hücrelerinde gerçekleşmektedir. İstisna olarak pulmoner endotelde sentezlendiği gösterilmiştir (Birks ve ark., 1997; Zhu ve ark., 1998; Yaghi ve ark., 2001). Elbette 20-HETE yalnızca bu hücrelerde üretilmemektedir. 20-HETE aynı zamanda nöronlar (Renic ve ark., 2012), astrositler (MacVicar ve Newman, 2015), kardiyomiyositler (Yousif ve ark., 2009; Anwar-mohamed ve ark., 2010), hepatositler, renal proksimal tübül ve çıkan kalın henle hücreleri ve glomerulusta üretilir (Ito ve ark., 1998; Ito ve Roman, 1999). Ayrıca periferik kan ve kemik iliğindeki miyeloid hücrelerde de bulunabilir (Hill ve Murphy, 1992; Rosolowsky ve ark., 1996; Christmas ve ark., 2001). 20-HETE aynı zamanda insan nötrofilleri ve trombositlerde de üretilir (Tsai ve ark., 2011). Tüm bunların yanında, postnatal neovaskülarizasyona katılan endotel progenitor hücreler de 20-HETE üretmektedir (Chen ve ark., 2014).



Şekil 2.7. CYP aracılı araşidonik asit metabolizması ve 20-HETE sentezi (Kroetz ve Xu, 2005)

2.3.3. 20-HETE Metabolizması

20-HETE 3 yolla inaktive edilebilir (Şekil 2.8.). 1) COX, 20-HETE'yi bir vazokonstriktör prostaglandin H₂ hidroksil analoguna (20-OH PG), metabolize eder. Bu bileşik vazodilatör/vazodilatör diüretik metabolitler, 20-OH-PGE₂ ve 20-OH-PGI₂ ve vazokonstriktör/antidiüretik metabolitler, 20-OH-TXA₂ ve 20-OH-PGF_{2α} üretmek için izomerazlar tarafından ilave dönüşüme uğrar (Elshenawy ve ark., 2013). 2) Dolaşımdaki 20-HETE, karaciğerde uridin 5'-difosfoglukosonosiltransferaz (UGT) ile bir glukuronide konjuge olur. Glukuronid ise glomerülden filtre olur ve idrarla atılır. 3) 20-HETE, alkol dehidrojenaz ile 20-karboksi-eikozatetraenoik aside (20-COOH-HETE), bunu takiben de β-oksidasyonla 18- ve 16-karbonlu dikarboksilik asitlere dönüşebilir (Fan ve ark., 2016).

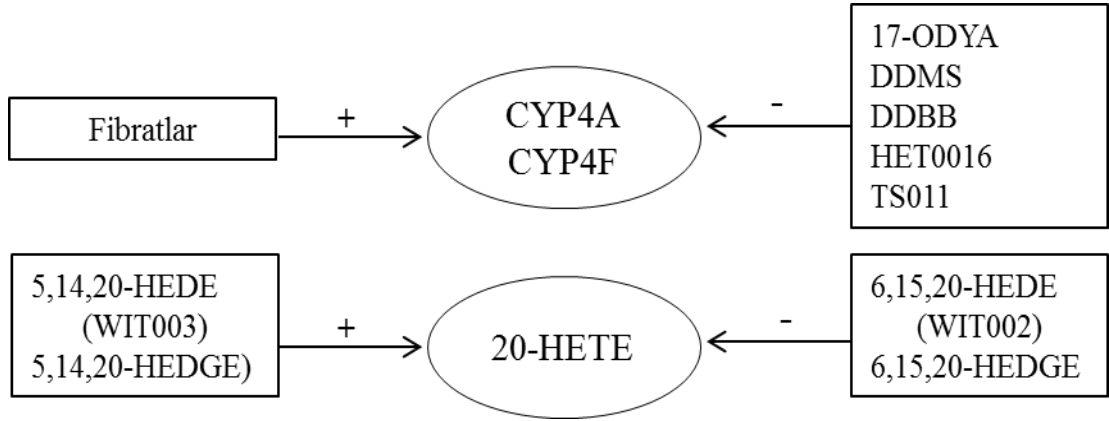


Şekil 2.8. 20-HETE metabolizması

2.3.4. 20-HETE Sentezinin Biyolojik ve Sentetik Düzenleyicileri

20-HETE sentezini inhibe eden bazı sentetik inhibitörler geliştirilmiştir. Bunlar 17-oktadesinoik asit (17-ODYA), N-metilsülfonil-12,12-dibromododec-11-enamid (DDMS), dibromododec-11-enoik asit (DBDD), N-hidroksi-N'-(4-bütil-2-metilfenil) formamidin (HET0016), N-(3-Kloro-4-morfolin-4-il) Fenil-N'-hidroksiimido formamit (TS011) ve asetilenik yağlı asidi sodyum 10-undesinil sülfat (10-SUYS)'tır (Nakamura ve ark., 2004; Xu ve ark., 2004; Kroetz ve Xu, 2005; Regner ve ark., 2009; Williams ve ark., 2010). HET0016, 20-HETE sentezinin güçlü ve selektif inhibitörüdür (Sato ve ark., 2001). 1-aminobenzotriazol (ABT) ve kobalt (II) klorid (CoCl₂) gibi AA metabolizmasının nonselektif inhibitörleri, 20-HETE oluşumunu inhibe etmek için de kullanılmaktadır (Chabova ve ark., 2007; Yanes ve ark., 2011). Ayrıca stabil analoglar olan 20-hidroksietikosa-6 (Z), 15 (Z) -dienoik asit (6,15,20-HEDE; WIT002) ve 20-hidroksietikosa-6 (Z), 15 (Z) -dienoil] glisin (6,15,20-HEDGE)'nin, 20-HETE'nin etkisini yarışmalı bir şekilde antagonize ettiği gösterilmiştir (Kroetz ve Xu, 2005; Regner ve ark., 2009; Williams ve ark., 2010). Diğer yandan PPARα agonistlerinin (örneğin fibratlar) 20-HETE oluşumunu

upregüle ettiği gösterilmiştir (Lee ve ark., 2011). Bunlara ek olarak, 20-HETE analogları, 20-hidroksietikosa-5 (Z), 14 (Z) -dienoik asit (5,14,20-HEDE; WIT003) ve N- [20-hidroksietikosa-5 (Z), 14 (Z) -dienoil] -glisin (5,14,20-HEDGE) 'nin 20-HETE'nin etkilerini taklit ettiği bulunmuştur (Tunctan ve ark., 2008; Regner ve ark., 2009; Cuez ve ark., 2010; Williams ve ark., 2010) (Şekil 2.9.). Bu kimyasalların özgülüğü kullanılan doza / konsantrasyona bağlıdır.



Şekil 2.9. 20-HETE sentezinin düzenlenmesi

20-HETE sentezi ve salınımı Ang II, ET-1, serotonin [5-hydroxytryptamine (5-HT)] ve bazı büyüme faktörleri tarafından düzenlenmektedir (Carroll ve ark., 1996; Carroll ve ark., 1997; Oyekan ve ark., 1997; Oyekan ve McGiff, 1998; Croft ve ark., 2000). Ayrıca güçlü bir vazokonstriktör olan ET-1 böbreklerden 20-HETE salınımını artırırken, 20-HETE üretiminin inhibisyonu ET-1'e karşı verilen renal vasküler yanıtı azaltır (Hercule ve Oyekan, 2000). Subaraknoid kanama sırasında serebral damarlar, 5-HT_{1B} reseptörünün 5-HT aracılı aktivasyonu ile 20-HETE sentezini artırır. Vasküler 20-HETE düzeyindeki bu artış, 5-HT' nin vazokonstriktör yanıtına katkıda bulunur (Cambj-Sapunar ve ark., 2003). Buna ek olarak, hem paratiroid hormonu hem de epidermal büyüme faktörü spontan hipertansif sıçan (SHR)'ların böbreklerinde 20-HETE üretimini uyarır (Omata ve ark., 1992; Lin ve ark., 1995). İlaveten androjen, böbrek interlobar arterlerinde 20-HETE üretimi ve CYP4A ekspresyonundaki artış ile ilişkilendirilmiştir (Nakagawa ve ark., 2003; Singh ve ark., 2007; Singh ve Schwartzman, 2008; Imig, 2013).

Ang II, endotelin ve noradrenalin vasküler düz kasta 20-HETE oluşumunu uyarırken (Chu ve ark., 2000; Roman, 2002; Miyata ve Roman, 2005), renal ve serebral arterlerdeki 20-HETE sentezi, NO, karbonmonoksit (CO) ve süperoksit radikalleri ile

inhibe edilir (Alonso-Galicia ve ark., 1997; Sun ve ark., 1998; Alonso-Galicia ve ark., 1999; Botros ve ark., 2002; Hoagland ve ark., 2003). Renovasküler hastalığı olan kişilerde plazma 20-HETE düzeyindeki artışa paralel olarak Ang II düzeyinde yükselme ve renin-anjiyotensin sisteminin etkinliğinde artma görülür (Minuz ve ark., 2008). NO, CYP'nin *hem* parçasına bağlanır ve onu inaktive ederek bu sistem için bir negatif geribildirim kontrol mekanizması sağlar (Harder ve ark., 1997). CO ise 20 HETE'in duyarlılaştırıcı etkisine müdahale ederek konstriktör agonistlere karşı vasküler düz kası duyarsızlaştırır (Kaide ve ark., 2004). Ayrıca karbondioksit (CO₂) arteriyel kandaki parsiyel CO₂ basıncı değişimlerine cevaben CYP4A'yı modüle edebilir ve 20-HETE düzeyini de kontrol edebilir. CO₂ hiperkapni sırasında beyindeki CYP4A'nın ekspresyonunu azaltırken hipokapni sırasında CYP4A'nın ekspresyonunu arttırabilir (Qi ve ark., 2012). İlginç olarak, susamın ana kimyasal maddesi olan sesamin, 20-HETE sentezini CYP4F2' yi inhibe ederek engeller. Kilolu erkek ve bayanlarda yapılan randomize kontrollü bir çalışmada susam takviyesinin plazma 20-HETE düzeyini %28 ve idrar 20-HETE düzeyini ise %32 azalttığı gösterilmiştir (Wu ve ark., 2009).

2.3.5. 20-HETE'nin Vasküler Etkileri

20-HETE ve Vasküler Yeniden Yapılanma

Vasküler yeniden yapılanma, kan damarlarının yapısal olarak yeniden düzenlenmesidir. Proliferasyon, migrasyon ve ekstraselüler matriks üretimindeki değişiklikler yoluyla kan damarlarında yapısal uyum gerçekleşir. Matriks metalloproteinazların, sitokinlerin ve inflamatuvar mediatörlerin aktivasyonu sürece eşlik eder (Renna, 2013; Renna ve ark., 2013). Vasküler yeniden yapılanmaya bazal membran ve ekstraselüler matriksteki değişimlerin yanı sıra, vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri ve fibroblastlar da katılır (McGrath ve ark., 2005).

20-HETE'nin Ang II (Muthalif ve ark., 1998; Parmentier ve ark., 2001), epidermal büyüme faktörü (Lin ve ark., 1995), VEGF (Guo ve ark., 2007) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (Stec ve ark., 2007) ile uyarılan endotel ve vasküler düz kas hücrelerinin migrasyonu ve proliferasyonunda katkısının bulunduğu bildirilmiştir. 20-HETE, yeni damar oluşumu gözlenen bölgelere migrasyonu teşvik etmek için proanjyogenik moleküller olan hipoksi indüklenebilir faktör-1 alfa, VEGF ve stromal hücre kaynaklı faktör-1alfa salgılanmasını uyarır, hem de kemokin reseptör

tip 4 ekspresyonunu arttırır (Guo ve ark., 2007; Guo ve ark., 2009; Guo ve ark., 2011; Chen ve ark., 2014; Cheng ve ark., 2014).

Hipertansiyonda 20-HETE'nin vasküler düz kas hücre migrasyonunu MAPK-PI3K (Stec ve ark., 2007), proliferasyonu ise RAS/MAPK (Muthalif ve ark., 2001) yolları aracılığı ile uyardığı gösterilmiştir. 20-HETE üretimindeki artışın hipertansiyonla uyarılan vasküler hipertrofiye neden olduğu düşünülmektedir. 5 alfa-dihidrotestosteron ile oluşturulan hipertansiyon modelinde vasküler CYP4A12'nin ekspresyonunda ve 20-HETE sentezindeki artış vasküler hipertrofi ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca 20-HETE üretiminin, CYP4A12 transgenik farelerde vasküler hipertrofiye neden olduğu saptanmıştır (Ding ve ark., 2013; Wu ve ark., 2013).

20-HETE ve Restenoz

Yaghini ve arkadaşları Ang II ve AA'nın balonla hasarlanmış sıçan karotis arterlerinde CYP4A1 ekspresyonunu ve neointimal oluşumu arttırdığını bildirmiştir (Yaghini ve ark., 2005). Başka bir çalışmada da balon hasarından sonra karotiste 20-HETE oluşumunun arttığı; ve kronik HET0016 veya diğer 20-HETE inhibitörlerinin ise vasküler düz kas proliferasyonunu, migrasyonunu ve neointimal oluşumu azalttığı gösterilmiştir (Yaghini ve ark., 2005; Orozco ve ark., 2013).

20-HETE ve Anjiyogenez

Anjiyogenez, yeni kompleks vasküler ağlar oluşturmak üzere var olan damardan endotel hücrelerinin filizlendiği ve anastomozların meydana geldiği yeni kan damarlarının oluşumu ve gelişimidir (Risau, 1997; Carmeliet ve Jain, 2011). Bu süreç, büyüyen ve göç eden endotel hücrelerini yönlendiren sinyal yolları, büyüme faktörleri ve hücreler arasındaki etkileşimleri içeren karmaşık bir süreçtir (Gerhardt ve ark., 2003; Hellstrom ve ark., 2007; Siekmann ve Lawson, 2007).

20-HETE'nin vasküler fonksiyonlar üzerine olan etkileri göz önünde bulundurulduğunda anjiyogenez sürecinde de önemli etkileri olabileceği düşünülmektedir. Çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda 20-HETE'nin vasküler anjiyogenezdeki rolü açık bir şekilde ortaya konmuştur.

In vitro olarak, CYP4A1'in vasküler düz kasa spesifik aşırı ekspresyonu sonucu artan 20-HETE'nin, kültüre edilmiş renal mikrodamarlarda endotelial filizlenmeye yol

açtığı belirtilmiştir. Bunun yanında 20-HETE agonistinin de aynı etkiyi gösterdiği saptanmıştır (Jiang ve ark., 2004). Ayrıca 20-HETE'nin insan umbilikal ven endotel hücrelerinde proliferasyonu ve tüp oluşumunu arttırdığı gösterilmiş olup (Chen ve ark., 2005), 20-HETE'nin anjiyogenik etkisi; ROS üretiminin uyarılması, HIF-1alfa'nın salgılanması ve PI3K/AKT'nin yolağının aktivasyonu ile sağlanmaktadır (Dhanasekaran ve ark., 2009; Guo ve ark., 2009; Chen ve ark., 2012).

ROS, 20-HETE ile indüksiyonu, anjiyogenezisi düzenleyen sinyal kaskadlarının başlatılması için kritik öneme sahiptir. 20-HETE anjiyogenezisi teşvik etmek için NADPH-bağımlı mekanizmalar yoluyla ROS'u artırır (Dhanasekaran ve ark., 2009). 20-HETE, ROS oluşumunu uyarmak için NADPH oksidaz altbirimi p47 (phox)'nin translokasyonu ve fosforilasyonunu uyarır (Medhora ve ark., 2008).

20-HETE'nin *in vivo* olarak sıçan korneasında neovaskülarizasyona neden olduğu gösterilmiştir. 20-HETE, VEGF ve fibroblast büyüme faktörü aracılığıyla kornea neovaskülarizasyonunu belirgin bir şekilde arttırmıştır (Chen ve ark., 2005). Bir başka *in vivo* çalışmada 20-HETE'nin, iskelet kasının kronik elektriksel stimülasyon ile uyarılan anjiyogenezde rol aldığı gösterilmiştir (Amaral ve ark., 2003).

20-HETE ve Vasküler İnflamasyon

Vasküler inflamasyon ateroskleroz, kardiyovasküler hastalık, hipertansiyon gibi çeşitli hastalıkların patojenezine katkıda bulunur, ayrıca vasküler yeniden yapılanma ve vasküler direncin artmasına neden olur (Schiffrin, 2004; Izzard ve ark., 2005; Marchesi ve ark., 2008). 20-HETE'nin vasküler inflamasyon ve hasarın çeşitli basamaklarında rol oynadığı bilinmektedir. 20-HETE endotel hücrelerinde inflamatuvar mediatörlerin, sitokinlerin (Ishizuka ve ark., 2008; Anwar-mohamed ve ark., 2010) ve adezyon moleküllerinin (Liu ve ark., 2006; Ishizuka ve ark., 2008) ekspresyonunu ve aktivitelerini düzenleyerek, ayrıca NO (Yaghi ve ark., 2001) ve süperoksit düzeylerini (Tuncan ve ark., 2013) değiştirerek vasküler inflamasyonda önemli rol oynar.

Böbrek iskemi/reperfüzyon hasar modelinde, 20-HETE'nin vasküler inflamasyona neden olduğu gösterilmiştir (Hoff ve ark., 2011). Ayrıca serebral iskemi/reperfüzyon modelinde ise 20-HETE beyin ödeminden, kan beyin bariyeri fonksiyonlarının ve sıkı bağlantıların bütünlüğünün bozulmasından sorumlu tutulmuştur (Liu ve ark.,

2014). Bir başka çalışmada, sıçan karotid arterlerinde oluşturulan hasar sonucu, CYP4A enziminde ve 20-HETE düzeyinde artış saptanmıştır. Kronik 20-HETE üretim inhibitörü kullanımı ise, vasküler düz kas hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu baskılayarak intimal hiperplazide azalmaya yol açmıştır (Orozco ve ark., 2013).

20-HETE, nükleer faktör-kappa beta (NF-KB)'yi aktive ederek ve ROS'un vasküler üretimini arttırarak SHR'lerde vasküler inflamasyona neden olmaktadır. Ayrıca 20-HETE'nin TNF alfa, IL-1 beta ve IL-6 ekspresyonlarında artışa sebep olduğu gösterilmiştir (Toth ve ark., 2013). Sitokin üretimini arttırmaya ek olarak, 20-HETE endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu uyarmaktadır (Liu ve ark., 2006; Ishizuka ve ark., 2008; Wang ve ark., 2015). Adezyon moleküllerinin ekspresyonundaki bu artış, makrofajların damar duvarına yapışmasını arttırarak proinflamasyonu tetiklemektedir.

In vitro çalışma sonuçları ise, 20-HETE'nin endotel hücrelerinde hem ROS seviyesini hem de NF-KB aktivitesini arttırdığını, böylece hücre içi interlökin-8 düzeyi ve intraselüler adezyon moleküllerinin ekspresyonundaki artış ile karakterize endotel aktivasyona neden olduğunu göstermiştir (Ishizuka ve ark., 2008).

20-HETE ve Endotelial Fonksiyon

Endotel hücreleri trombosit ve lökositlerin adezyonunda, vasküler tonusun ve kan akımının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Endoteliumun sağlamlığı NO dahil birçok faktöre bağlıdır. Endotel disfonksiyonu, hem NO üretimindeki azalma ve NO metabolizmasındaki artıştan, hem de endotel kaynaklı gevşetici ve kasıcı faktörlerin dengesizliğinden kaynaklanan NO biyoyararlanımındaki azalmadır. Ach gevşeme yanıtındaki azalma, endotel disfonksiyonunun göstergesi olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Endotel disfonksiyonu hipertansiyonun bir özelliğidir ve kardiyovasküler hastalıklar için erken risk faktörüdür (Harrison, 1997; Cai ve Harrison, 2000).

20-HETE endotel disfonksiyonuna katkıda bulunabilmektedir. Öncelikle, 20-HETE nikotinamid adenin dinükleotide fosfat (NADPH) oksidaz aktivitesini uyarak endotel hücrelerinde süperoksit oluşumuna neden olur. Ayrıca eNOS'un eşleşmemesine (uncoupled eNOS) neden olarak NO üretimini azaltır, bu durumda

süperoksit miktarını ise arttırır (Cheng ve ark., 2008; Cheng ve ark., 2010). Böylece NO üretimi azalması ve süperoksit artışı ile NO biyoyararlanımında oluşan bu düşüş, endotel disfonksiyonunun göstergesi olarak endotel bağımlı dilatör yanıtları bozar.

Endotel disfonksiyonu ile karakterize bir çok hipertansiyon modelinde 20-HETE araştırılmıştır. SHR'lerde (Sacerdoti ve ark., 1988; Dunn ve ark., 2008; Toth ve ark., 2013) ve androjen ile uyarılan hipertansif hayvanlarda (Singh ve ark., 2007; Wu ve ark., 2011) vasküler dokuda 20-HETE üretimi yüksek bulunmuştur. 20-HETE androjen ile oluşturulan hipertansif modelde NADPH oksidazın gp-91 ve gp-47 phox subunitlerinin ekspresyonunda ve ROS üretiminde artışa neden olmuştur (Singh ve ark., 2007). Yine aynı model hayvanlarda 20-HETE'nin vasküler NF-KB aktivitesinde artışa yol açtığı ve endotel bağımlı gevşeme yanıtını bozduğu gösterilmiştir (Wu ve ark., 2011). SHR'lerde ise 20-HETE'nin vasküler süperoksit düzeyinde artışı uyardığı ve endotel bağımlı gevşeme yanıtını bozduğu saptanmıştır (Dunn ve ark., 2008; Toth ve ark., 2013). Bu çalışmaların yanı sıra genetik olarak 20-HETE üretiminden sorumlu enzimin aşırı ekspresyonu sağlanarak, damarlarda 20-HETE üretiminde artış ve hipertansiyon gelişimi gözlenmiştir. Ayrıca bu damarlarda NO ve GMP düzeylerinde azalma, süperoksit anyonu seviyesinde artış ve endotel bağımlı gevşeme yanıtında azalma görülmesi endotel disfonksiyonuna işaret etmektedir (Wang ve ark., 2006; Inoue ve ark., 2009; Sodhi ve ark., 2010).

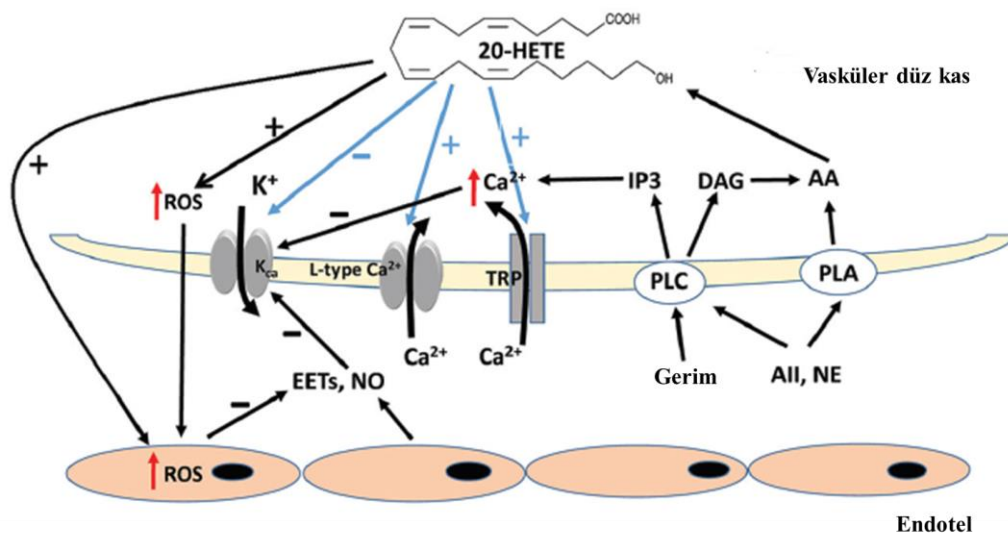
Wang ve arkadaşları, 20-HETE'nin endotel hücrelerinde ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK) ve kalsiyum akışının aktivasyonu, Von Willebrand faktörün (vWF) salınımını ve trombositlerin adezyonunu arttırarak trombozu tetikleyebileceğini bildirmiştir (Wang ve ark., 2015).

Vasküler Tonusun Düzenlenmesinde 20-HETE

AA metabolizması sonucu oluşan ürünlerin genellikle kardiyovasküler sistem, özellikle de mikrodolaşım üzerine önemli etkileri mevcuttur (Watts, 2008). Miyojenik tonusa AA'nın CYP450 kaynaklı metabolitlerinin katkısı olduğu iyi bilinmektedir. Son otuz beş yıldaki çalışmalar, CYP 4A ve 4F ailelerinin enzimleri tarafından kan damarları, böbrek, kalp, akciğer ve diğer dokularda üretilen 20-HETE'nin, AA'nın önemli bir metaboliti olduğunu ortaya koymuştur. 20-HETE vasküler reaktivite, sodyum taşınımı, endotel disfonksiyonu, oksidatif stres, hücre proliferasyonu, vasküler hipertrofi, inflamasyon, anjiyogenez ve kan basıncının

düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır (Roman, 2002; Williams ve ark., 2010; Fan ve ark., 2016; Waldman ve ark., 2016). 1989'da Escalante ve arkadaşları ilk kez sıçan aortasında 20-HETE'nin vazokonstriktif etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir. Fakat 20-HETE'nin bu etkisini COX tarafından metabolize edilmesine bağlamışlardır (Escalante ve ark., 1989). Günümüzde 20-HETE'nin vazokonstriktör etkisinin büyük oranda COX'dan bağımsız olduğu gösterilmiştir (Ma ve ark., 1993; Imig ve ark., 1996).

20-HETE transmural basıncın yükselmesinin ardından myojenik yanıtta kilit rol oynar. Arteriollerde transmural basıncın yükselmesiyle 20-HETE düzeyinde artış görülür (Gebremedhin ve ark., 2000). 20-HETE'nin inhibisyonu sonucu *in vitro* koşullarda renal ve serebral arteriyollerin myojenik yanıtının (Kausser ve ark., 1991; Gebremedhin ve ark., 2000), *in vivo* koşullarda da renal ve serebral kan akımının otoregülasyonunun bloklandığı gösterilmiştir (Zou ve ark., 1994; Gebremedhin ve ark., 2000). Yapılan çalışmalar sonucu 20-HETE'nin renal (Ma ve ark., 1993; Imig ve ark., 1996; Sun ve ark., 1998; Alonso-Galicia ve ark., 1999), mezenterik (Wang ve ark., 2001), serebral (Harder ve ark., 1994; Harder ve ark., 1998; Gebremedhin ve ark., 2000) ve iskelet kası damarlarında (Harder ve ark., 1996; Kunert ve ark., 2001) etkili bir vazokonstriktör olduğu saptanmıştır (Roman, 2002; Pat Kunert ve Drenjancevic, 2011). 20-HETE vazokonstriktör etkisini değişik yollar üzerinden gösterebilmektedir (Şekil 2.10.) (Fan ve ark., 2016):



Şekil 2.10. 20-HETE'in vazokonstriktör etkisine aracılık eden mekanizmalar

- 1- 20-HETE, Ca^{+2} ile aktive olan iletkenliği büyük K^{+} kanalları (BKCa) üzerinden doğrudan etki gösterebilir. 20-HETE, BKCa'ları inhibe ederek hücre dışına K^{+} akışını engeller, böylece vasküler düz kas hücresinde depolarizasyona yol açmaktadır. Bu durumda voltaj bağımlı L tipi kalsiyum kanallarından Ca^{+2} hücre içine girerek vazokonstriksiyona neden olmaktadır (Zou ve ark., 1996; Sun ve ark., 1998; Williams ve ark., 2010).
- 2- 20-HETE, BKCa'lara doğrudan etkisi yanında PKC aracılığıyla bu kanalları inhibe edebilir. 20-HETE 'nin kedi serebral arterlerinden izole edilen vasküler düz kas hücrelerinde PKC'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada PKC inhibitörleri kullanılarak 20-HETE'nin kedi serebral arterlerinde Ca^{+2} bağımlı K^{+} kanalı üzerine olan etkisinin engellendiği ve vasküler tonusun azaldığı saptanmıştır (Lange ve ark., 1997). Bu sonuçlar 20-HETE'nin vazokonstriktör etkisine PKC'nin aracılık edebileceğini göstermektedir (Roman, 2002).
- 3- 20-HETE, aynı zamanda PKC'nin aktivasyonu yoluyla L-tipi Ca^{+2} kanallarının iletkenliğini arttırmaktadır (Gebremedhin ve ark., 1998).
- 4- 20-HETE, ayrıca MAPK (Muthalif ve ark., 1998; Muthalif ve ark., 2000; Muthalif ve ark., 2001) ve src tip tirozin kinazı (Sun ve ark., 1999) aktive ederek de vazokonstriksiyon gerçekleştirebilmektedir (Williams ve ark., 2010). Bu kinazlar BKCa'ları fosforile ederek inhibe edebilir. Sonuçta depolarizasyona ve L-tipi Ca^{+2} kanalları aracılığıyla Ca^{+2} girişine neden olmaktadır.
- 5- 20-HETE, Rho kinazı da aktive edebilmektedir. Böylece 20-HETE, Rho kinaz aracılığıyla vasküler düz kası Ca^{+2} 'a daha duyarlı hale getiren miyozin hafif zincirinin fosforile durumunun korunmasını sağlamaktadır (Randriamboavonjy ve ark., 2003; Garcia ve Schwartzman, 2017)
- 6- 20-HETE, TRPC6 (transient receptor potential canonical6) ve TRPV1 (transient receptor potential vanilloid-1) kanallarını aktive ederek (Basora ve ark., 2003; Brayden ve ark., 2008; Inoue ve ark., 2009; Wen ve ark., 2012) hücre içine doğru nonselektif katyonların iletkenliğini arttırmaktadır.

Bu bilgiler ışığında hücre içinde oluşan 20-HETE'nin hücrenin içindeki çeşitli mekanizmaları harekete geçirerek vasküler düz kas hücresinde ikincil haberci olarak ta düşünülmesi de mümkündür (Harder ve ark., 1997).

Yukarıda belirtildiği gibi, 20-HETE vasküler tonusun düzenlenmesine doğrudan katkıda bulunabildiği gibi çeşitli vazokonstriktif maddelere aracılık yaparak da bu etkisini göstermektedir. Hem SHR hem de normotansif kontroller olan Wistar-Kyoto sıçanların (WKY) mezenter arterlerinde, 20-HETE üretim inhibitörü N-metilsülfonil-12,12-dibromododec-11-enamid (DDMS) inkübasyonu sonrasında fenilefrin (Phe) ve vazopresin kasılma yanıtları azalmıştır (Zhang ve ark., 2001). Aynı şekilde sıçan grasilis kası arteriyollerinde de DDMS inkübasyonu sonrasında Phe kasılma yanıtları baskılanmıştır (Zhang ve ark., 2004). Yine farklı bir çalışmada sıçan orta serebral arterlerinde serotonin kasılma yanıtının 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 varlığında azaldığı gözlenmiştir (Cambj-Sapunar ve ark., 2003). ET-1 yanıtları incelendiğinde; sıçan preglomerular arteriollerinde ET-1 kasılma yanıtının 20-HETE üretim inhibitörü 17-ODYA ile azaldığı saptanmıştır. Bunun yanında ET-1 sıçan renal vasküler perfüzyon basıncında artışa neden olmuştur. AA metabolizmasının nonselektif inhibitörü CoCl₂ ve 20-HETE selektif inhibitörü DBDD uygulaması sonrasında renal perfüzyon basıncında düşüş görülmüştür (Oyekan ve ark., 1997). 20-HETE'nin kasılma yanıtlarındaki katkısını ortaya koyan bu çalışmaların yanı sıra; sıçan preglomerular damarların Ang II ile inkübasyonu sonrasında 20-HETE düzeyinde artış saptanmıştır (Croft ve ark., 2000). Ayrıca, tavşan üreteral ve renal venöz perfüzlarda Ang II'nin arteriyal enjeksiyonu sonrası 20-HETE üretimi artmıştır (Carroll ve ark., 1997).

20-HETE sadece vazokonstriksiyonu uyarmakla kalmaz aynı zamanda vasküler gevşemeyi de azaltır. Örneğin, 20-HETE, böbrek interlobar arterlerinde asetilkoline verilen gevşeme yanıtını azaltır (Frisbee ve ark., 2000; Joly ve ark., 2006; Wang ve ark., 2006).

Birçok vasküler dokuda 20-HETE'nin vazokonstriktör etkisinin görülmesinin aksine, deney hayvanları ve insanların pulmoner arter ve bronşiol düz kasında 20-HETE dilatör etkilidir (Birks ve ark., 1997; Zhu ve ark., 1998; Zhu ve ark., 2002; Chen ve ark., 2006). CYP4A proteini pulmoner arterde hem vasküler düz kas hücrelerinde hem de endotelde eksprese edilir (Zhu ve ark., 2002). Sıçan pulmoner arterlerinde

20-HETE'nin vazodilatatör etkisi, intraselüler kalsiyumda artışa ve eNOS aktivasyonuna sekonder olarak NO ve/veya CO'nun endotel tarafından serbest bırakılmasıyla gerçekleşir (Yaghi ve ark., 2001; Chen ve ark., 2006). Ayrıca 20-HETE'nin insan pulmoner arterlerinde ve sığır koroner arterlerinde gevşemeye neden olduğu bildirilmiştir (Birks ve ark., 1997; Pratt ve ark., 1998).

Oksijen düzeyindeki artış ile iskelet kası damarları kontrakte olurken, oksijen düzeyinin azalmasıyla dilate olurlar, böylece doku kan akımının kontrolü sağlanır (Duling ve Berne, 1970; Segal, 2005). Oksijen parsiyel basıncındaki değişikliklerle iskelet kasında vasküler tonusun düzenlenmesine aracılık eden faktörlerin başında endotel kaynaklı gevşetici faktörler (Pohl ve Busse, 1989; Green ve ark., 2004), prostanoidler (Messina ve ark., 1992; Fredricks ve ark., 1994; Messina ve ark., 1994) ve NO (Pries ve ark., 1995; Kerkhof ve ark., 1999) gelmektedir. Bunların yanı sıra üzerinde durulan diğer bir faktör ise 20-HETE'dir. 20-HETE üretiminden sorumlu enzim CYP4A kremaster kası arteriyollerinde ve kas liflerinde bulunur (Kunert ve ark., 2001) ve lokal parsiyel oksijen basıncındaki artışı takiben derhal harekete geçip vazokonstriktör 20-HETE üremini artırır. Tam tersi olarak lokal parsiyel oksijen basıncı düştüğünde ise 20-HETE üretimi azalır (Harder ve ark., 1996; Lombard ve ark., 1999). Oksijenle uyarılan kontraksiyonda 20-HETE'nin katkısı hamster retraktör kası arteriyollerinde (Lombard ve ark., 1999), hamster ve sıçan kremaster kası arteriyollerinde (Harder ve ark., 1996; Lombard ve ark., 1999; Frisbee ve ark., 2000; Kunert ve ark., 2001; Frisbee ve Lombard, 2002) ve grasilis kasını besleyen arterlerde (Frisbee ve ark., 2001) gösterilmiştir.

Amaç ve Hipotez

Hem sağlıklı yaşamın bir parçası olarak bilinen hem de birçok hastalığın tedavisinde yeri olan düzenli fiziksel aktivite sonucu, organizmada birçok uyum gerçekleşmektedir. Bu uyum sürecinde kan damarlarında da hem fonksiyonel hem de yapısal çeşitli adaptasyonlar görülmektedir. Bu bağlamda çalışmamız düzenli fiziksel aktivitenin vasküler tonusa olan etkisindeki mekanizmalara katkıda bulunmak amacıyla planlanmıştır. Düzenli fiziksel aktiviteler sonrasında istirahat koşullarında vasküler tonustaki değişikliklerde birçok mediatörün etkisi bilinirken, lokal dolaşımın düzenlenmesinde önemli katkıları bulunan 20-HETE'nin egzersiz süreçlerindeki durumu hakkında literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

Yaptığımız bu çalışmayla, düzenli yüzme egzersizi ile antrene hale getirilen sıçanlarda 20-HETE'nin akut olarak kan basıncı üzerine etkisinin belirlenmesi; torasik aorta, iskelet kası ve mezenter yatağa ait direnç damarlarında 20-HETE'nin vasküler kasılma ve gevşeme yanıtlarındaki katkısının incelenmesi; bu damarlarda 20-HETE miktarının ve 20-HETE üretiminden sorumlu enzim CYP4A ekspresyonunun saptanması amaçlanmıştır.

Hipotez: Düzenli yüzme egzersizi ile antrene hale getirilen sıçanların direnç ve iletim tipi arterlerinde 20-HETE'nin vasküler tonusa katkısı azalır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilen bu çalışmada 6-8 aylık, erişkin, Wistar cinsi toplam 62 adet erkek sıçan kullanıldı. Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı (Onay tarihi: 01.09.2014, Protokol No: 2014.09.04) ile Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Bakım ve Üretim Ünitesinden temin edilen sıçanlar, standart laboratuvar koşullarında 12 saat ışık ve 12 saat karanlık periyodu uygulanan odada tutuldu. Hayvanların standart ticari yem ve su alımı serbest bırakıldı.

3.1. Gruplandırma

Araştırmamız üç kısımdan oluştu:

1. *In vivo* çalışma
2. *Ex vivo* çalışma
3. Ölçüm sonuçları

Öncelikle *in vivo* çalışmada 20-HETE biyosentezinin selektif inhibitörü HET0016 (N-Hydroxy-N'-(4-butyl-2-methylphenyl)-formamidine)'nin akut olarak kan basıncına etkisi değerlendirildi. Çalışmanın *ex vivo* kısmında organ banyosu ve miyograf yardımıyla damarların kasılma ve gevşeme yanıtları kaydedildi. Son kısımda ise 20-HETE üretiminden sorumlu enzim CYP4A ekspresyonu ve 20-HETE'nin damarlardaki düzeyi belirlendi. Bu doğrultuda çalışmamızda kullanılmak üzere 62 adet sıçan rastgele olmak üzere gruplara ayrıldı.

Çalışma grupları:

1. Kontrol
2. Egzersiz

3.2. Egzersiz Protokolü

Düzenli, aerobik yüzme egzersizi şeklinde uygulanan antrenman protokolü için çeşme suyuyla doldurulan ve su sıcaklığı 33-34°C'de sabit tutulan 50x50x100 cm boyutlarındaki akvaryumlar kullanıldı. Hedeflenen 1 saatlik egzersiz süresine ulaşmak için çalışmanın başında hayvanların suda kalma süreleri 1 hafta boyunca kademeli olarak arttırıldı. Sonrasında 8 hafta boyunca yüzme egzersizi haftada 5 gün, günde 1 saat şeklinde uygulandı (Kim ve Lee, 2014). Uygulanan bu egzersiz

protokolünde egzersiz şiddeti VO₂ max (maksimal oksijen tüketimi)'ın % 55-60'ına karşılık gelmekte olup düşük-orta şiddetli bir aerobik egzersiz sayılmaktadır (Shepherd ve ark., 1982).

3.3. Deneyin Sonlandırılması

8 haftalık egzersiz süresinin sonunda egzersizin akut etkisini dışlamak için sıçanlara uygulanan son egzersizden 48 saat sonra hayvanlar deneye alındılar. Tiopental sodyum (80 mg/kg, intraperitoneal) anestezisi ile uyutulup karınları açılan hayvanlar abdominal aortalarına atılan kesi sonucu kansızlaştırılarak feda edildi. Akabinde vasküler yanıtlarda kullanılmak üzere mezenter yatak, gastrokinemius kası ve torasik aorta çıkarıldı. Bu dokular pH'sı 7,4 olan +4°C' deki Krebs solüsyonuna (110 mM NaCl, 5 mM KCl, 24 mM NaHCO₃, 1 mM KH₂PO₄, 1 mM MgSO₄·7H₂O, 2,5 mM CaCl₂, 10 mM glukoz, 0,02 mM EDTA) alındı. Ayrıca sitrat sentaz enzim aktivitesi ölçümü için her iki bacakdaki kırmızı *vastus lateralis* kası çıkartılıp, numuneler kapaklı küçük bir tüp içerisinde sıvı azota daldırılarak donduruldu ve deney gününe kadar -80°C'de saklandı.

3.3.1 Sitrat Sentaz Aktivitesinin Ölçümü

Sitrat sentaz aktivitesi, egzersiz uygulamasının etkinliğini saptamak için kullanılan kasın oksidatif kapasitesinin bir göstergesidir. Bu nedenle düzenli fiziksel aktivite yapan hayvanların antrene olduklarını kanıtlamak için *vastus lateralis* kası örneklerinde sitrat sentaz enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçüldü. Yöntem; Asetil CoA ve oksaloasetik asidin sitrat sentaz varlığında sitrat ve CoA-SH'a ve ardından 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) varlığında CoA-SH'ın 412 nm'de ışığı güçlü bir şekilde absorbe eden merkaptid iyonuna dönüşmesine dayanmaktadır (Leek ve ark., 2001).

Kullanılan solüsyonlar:

| | |
|--|----------|
| Tris tamponu (pH: 8) | : 100 mM |
| Fosfat tamponu (pH: 7,4) | : 100 mM |
| Asetil CoA (Sigma-A2056, St. Louis, MO, USA) | : 3 mM |
| Oksaloasetik asit (Sigma-O-4126, St. Louis, MO, USA) | : 5 mM |
| DNTB (Sigma-D8130, St. Louis, MO, USA) | : 1 mM |

Doku Örneklerinin Hazırlanması

Sitrat sentaz aktivitesi tayini için -80°C’de saklanan *vastus lateralis* kas örneklerinin buz üzerinde çözünmesi sağlanıp, yaş ağırlıkları kaydedildi ve sonra örnekler bir bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. Fosfat tamponu (25 mM KH₂PO₄, 25 mM K₂HPO₄, 5 Mm EDTA, 5 Mm EGTA) ile 1:20 oranında dilüe edilen bu doku parçaları, teflon uçlu homojenizatör ve sonikatör yardımıyla homojenize edildi. Homojenatların fosfat tamponu ile tekrar 1:20 oranında sulandırılmasıyla örnekler ölçüme hazır hale getirildi.

Doku Örneklerinin Çalışılması

Tris tamponu (100 µl), Asetil CoA (50 µl), DTNB (100 µl) ve homojenat (50 µl) karışımı 30°C’de 5 dakika süreyle inkübe edildi. Süre tamamlandığında karışıma oksaloasetik asitik (100 µl) eklenerek, spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda ilk okuma yapıldı. 37°C’de gerçekleştirilen spektrofotometrik okuma 3 dakika sonra tekrarlandı. Merkaptid iyonunun molar ekstinsiyon katsayısı, 1 dakikalık absorbans değişimi, dilüsyon faktörü ve kas yaş ağırlıkları üzerinden enzim aktivitesi hesaplanıp, sonuçlar µM.g yaş doku⁻¹.dakika-1 (µM.g⁻¹.dk⁻¹) olarak verildi.

3.4. In vivo Çalışma

3.4.1. Kan Basıncı Ölçümü

Çalışmamızın *in vivo* olarak tasarlanan bu kısımda E ve K grubu hayvanlar ketamin-ksilazin kombine anestezisi altında uyutuldu. 20-HETE biyosentezinin selektif inhibitörü HET0016 (Cayman Chemical, Item № 75780, Ann Arbor, MI) infüzyonu için eksternal jugular vene polietilen kateter yerleştirildi. Kan basıncı ölçümü için ise karotis arter kanüle edildi ve basınç transduseri yerleştirildi. 15 dakika bazal kayıt alındıktan sonra bolus olarak HET0016 (5 mg/kg dozda HET0016, %10 lesitin içeren %0,85 NaCl içinde çözüldü) verildi ve 1 saat boyunca hayvanların kan basıncı takip edildi. 5, 15, 30, 45 ve 60. dakikalarda kan basıncındaki değişiklikler kaydedildi. Vehicle grubu (çözgen grubu) olarak hayvanlara sadece %10 lesitin içeren %0,85 NaCl uygulandı. Vehicle grubu hayvanların ortalama kan basıncında herhangi bir değişiklik görülmedi. Bundan dolayı vehicle sonuçları gösterilmemiştir.

3.5. Ex vivo Çalışma

3.5.1. Dokuların ve Damarların İzolasyonu

Yukarıda anlatıldığı gibi hayvanlar son egzersizden 48 saat sonra feda edilip, torasik aortanın izolasyonu için hayvanın sternum boyunca diyaframa kadar göğüs boşluğu açıldı. Torasik aortayı daha iyi görmek için akciğerlerle birlikte kalp ve özofagus çıkartıldı. Sonrasında aorta diyaframa yakın uçtan penset yardımıyla sıkıca tutulup, dokunun alt tarafından cerrahi makas ile kesi yapılarak torasik aortanın columna vertebralisten ayrılması sağlandı. Mezenter yatağın izolasyonu için hayvanların karınları orta hat boyunca kesi yapılarak açıldı ve abdominal boşlukta yer alan organlar görünür hale getirildi. Barsak içeriğinin dışarı çıkmaması için dikiş ipi yardımıyla ileoçekal bağlantıdan ve duodenumdan çift taraflı düğüm atilip kesilerek kalın barsak olmaksızın mezenter yatak çıkarıldı. Bacağın arka kısmında soleus ile beraber bulunan gastrokinemius kasının çıkartılması için ise öncelikle derinin kastan ayrılması sağlandı. Aşil tendonuna bağlı gastrokinemius kasının tendonla bağlantısı kesildikten sonra femura paralel şekilde kesi yapılarak kasın izolasyonu sağlandı.

Hayvanlardan çıkarılan mezenter yatak, torasik aorta ve gastrokinemius kası pH'sı 7,4 olan +4°C' deki Krebs solüsyonuna (110 mM NaCl, 5 mM KCl, 24 mM NaHCO₃, 1 mM KH₂PO₄, 1 mM MgSO₄·7H₂O, 2,5 mM CaCl₂, 10 mM glukoz, 0,02 mM EDTA) alındı. Sonrasında dokular yine içinde Krebs solüsyonu bulunan izolasyon petrisine aktarıldı. Diseksiyon mikroskobu (OLYMPUS-SZ61) altında perivasküler yağ doku temizlenerek damarlar izole edildi. Bu çalışmada torasik aort iletim tipi arter yanıtı için, mezenter damar yatağının 3. dalları (170-190 µm çapında) ve gastrokinemius damar yatağının 2. dalları (160-200 µm çapında) ise direnç damarı yanıtlarını incelemek için kullanıldı. Mezenter direnç damarları egzersiz sırasında aktif olmayan, gastrokinemius direnç damarı ise egzersizde aktif olan dokuların davranışını gözlemek için seçildi. Ayrıca izole edilen damar örneklerinin bir kısmı 20-HETE düzeyi ölçümünde bir kısmı da CYP4A protein ekspresyonunda kullanılmak üzere -80°C'de saklandı.

3.5.2. Organ Banyosu ve Telli Miyograf Çalışması Ön Hazırlık

Yaklaşık 2 mm uzunluğundaki torasik aorta damar halkaları % 95 O₂, % 5 CO₂ içeren gaz karışımı ile gazlandırılmış, 37°C ve pH'sı 7,4 olan krebs solüsyonu içeren organ banyosunda (Şekil 3.1.) çelik tellere asılarak gergin bir ip aracılığıyla

izometrik transdusere (FDT 1 A-10 MAY, Ankara, Türkiye) bağlandı. Damarlar 15 dk bekleme periyodundan ardından 1 gram istirahat gerimi altında her 15 dakikada bir yıkanarak 60 dakika boyunca dinlendirildi.

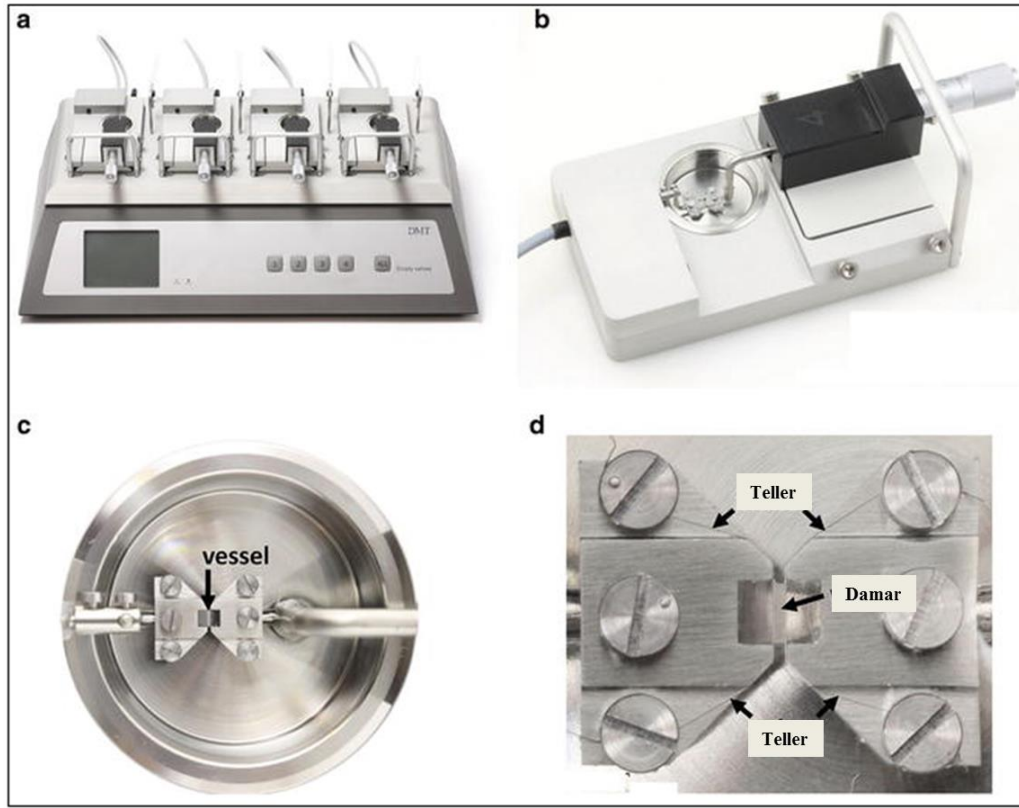


Şekil 3.1. Organ banyosu sistemi

Gastrokinemius ve mezenter direnç damarları ise Krebs solüsyonu içeren telli miyograf (Model 620M, Danish Myo Technology, Aarhus N, Danimarka) sistemine (Şekil 3.2.) yerleştirildi. 15 dk bekleme periyodundan sonra damar duvarının oluşturduğu gerim bilgisayar yazılımı (LabChart Pro V7, Adinstruments, Bella Vista, Avusturalya) yardımıyla hesaplanıp, damarlar bu gerimde her 15 dakikada bir yıkanarak 60 dakika boyunca dinlendirildi.

Dinlenme periyodunun ardından her üç tip damar için de bir ön-uyarılma oluşturmak amacıyla 60 mM KCl içeren Krebs solüsyonu banyolara eklendi ve damarların kasılması için bir süre beklendi. Bu işlem sonucunda damarların maksimum kasılma gerimleri, bir internal standart oluşturmak için % 100 olarak kabul edildi. Damarların tüm vazokonstriktif ajanlara karşı verdikleri yanıtlar 60 mM KCl' nin oluşturduğu maksimum gerimin yüzdesi olarak hesaplandı. Endotel sağlamlığını test etmek için 10^{-6} M fenilefrin (Phe) (Sigma-P6126, St. Louis, MO, USA) ile kasılan damarlara aynı konsantrasyonda asetilkolin (Ach) (Sigma-A6625, St. Louis, MO, USA) uygulanarak, gevşeme cevabının yüzdesi saptandı ve %80'in altında gevşeme yanıtı

veren damarlar deney protokolüne alınmadı. Her üç tip damar için de ortak deney protokolü izlendi.



Şekil 3.2. Telli miyograf sistemi

3.5.3. 20-HETE'nin Vasküler Tonusa Etkisinin İncelenmesi

Vazokonstriktör bir madde olan 20-HETE'nin üretiminin vasküler tonusa katkısı üç aşamada incelendi. İlki vazokonstriktör maddelere karşı kasılma yanıtlarına olan katkısı ve doğrudan 20-HETE'nin kasıcı etkisi şeklinde değerlendirildi. 20-HETE iki yolla vazokonstriktör etkisini ortaya koymaktadır; doğrudan damarlarda kasılma yaparak ve çeşitli vazokonstriktör ajanlar ile salgılanıp onların kasılma yanıtlarını arttıracaktır. 20-HETE'nin vazokonstriktör maddeler (noradrenalin, fenilefrin, anjiyotensin II, tromboksan, vazopresin) aracılı oluşturduğu yanıtlardaki rolü 20-HETE oluşumu inhibe edilerek değerlendirildi. Bu amaçla 20-HETE üretiminden sorumlu enzim CYP4A'nın inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında vazokonstriktör maddelere karşı kasılma yanıtları alındı. Böylece 20-HETE'nin vasküler tonusa katkısı vazokonstriktör maddelere olan kasılma yanıtının azalmasına katkısı şeklinde değerlendirildi. İkinci aşamada HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında vazodilatör madde olan asetilkolin (Ach)'ne karşı gevşeme yanıtları

alındı. 20-HETE'nin vasküler tonusa katkısı bu aşamada Ach gevşeme yanıtının artışına olan katkısı şeklinde incelendi. Üçüncü aşamada ise HET0016'nın kendisinin doğrudan gevşeme yanıtına olan katkısı değerlendirildi. Bu üç aşamadan oluşan protokoller aşağıda ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

I- 20-HETE'nin kasılma yanıtındaki değişikliğe katkısı

- a. Noradrenalin (NA) (Sigma-A9512, St. Louis, MO, USA) aracılı kasılma yanıtı: Damarların kümülatif olarak $10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M dozlarda NA'ya karşı verdikleri kasılma yanıtları 30 dk 1 μ M HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi.
- b. Fenilefrin (Phe) (Sigma-P6126, St. Louis, MO USA) aracılı kasılma yanıtı: Damarların kümülatif olarak $10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M dozlarda Phe'ne karşı verdikleri kasılma yanıtları 30 dk 1 μ M HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi.
- c. Anjiyotensin II (Ang II) (Sigma-A2900, St.Louis, MO, USA) aracılı kasılma yanıtı: Damarların kümülatif olarak $10^{-11} - 10^{-6}$ M dozlarda Ang II'ye karşı verdikleri kasılma yanıtları 30 dk 1 μ M HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi.
- d. Tromboksan A2 agonisti (U-46619) (Cayman Chemical, Item № 16450, Ann Arbor, MI, USA) aracılı kasılma yanıtı: Damarların kümülatif olarak $10^{-10} - 10^{-6}$ M dozlarda U-46619'a karşı verdikleri kasılma yanıtları 30 dk 1 μ M HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi.
- e. Vazopresin (Vaz) (Sigma V9879, St.Louis, MO, USA) kasılma yanıtı: Damarların kümülatif olarak $10^{-12} - 3 \times 10^{-7}$ M dozlarda vazopresine karşı verdikleri kasılma yanıtları 30 dk 1 μ M HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi.
- f. 20-HETE kasılma yanıtı: 20-HETE'ye (Cayman Chemical, Item № 90030 Ann Arbor, MI, USA) karşı damarların gösterdiği olası kasılma yanıtı artışı ekzojen 20-HETE verilmesiyle değerlendirildi. Damarların kümülatif olarak $10^{-9} - 3 \times 10^{-6}$ M dozlarda 20-HETE'ye karşı verdikleri kasılma yanıtları kaydedildi. Ekzojen 20-HETE kasılma yanıtı elde edilemedi. 20-HETE doz yanıtı alabilmek için

farklı doz aralıkları kullanımı, ayrıca Phe ile ön kasılma yapma, çeşitli çözgenlerde 20-HETE'nin çözülmesi gibi çeşitli yollar denenmesine rağmen damarlarda kasılma yanıtı alınamamıştır. Literatürde de 20-HETE çalışmalarında doğrudan bu ajanın yanıtının alınmasından ziyade değişik vazokonstriktörlerin kasıcı etkisini arttırması şeklinde değerlendirme yapılmaktadır (Lange ve ark., 1997; Zhang ve ark., 2001; Randriamboavonjy ve ark., 2003; Kunduri ve ark., 2013).

II- 20-HETE'nin gevşeme yanıtındaki değişikliğe katkısı

Ach aracılı gevşeme yanıtı: Submaksimal dozda Phe ile kasılmayı takiben damarların kümülatif olarak 10^{-9} – 3×10^{-5} M dozlarda Ach'e karşı verdikleri gevşeme yanıtları HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi.

III- HET0016 doz yanıtı

Submaksimal dozda Phe ile kasılmayı takiben damarların kümülatif olarak 10^{-9} – 3×10^{-5} M dozda HET0016'ya karşı verdikleri gevşeme yanıtları kaydedildi.

3.6. 20-HETE üretimi ve Düzeyinin Belirlenmesi

3.6.1 20-HETE Ölçümü

Torasik aorta, gastrokinemius kası direnç damarları ve mezenter yatak direnç damarlarında 20-HETE miktarı yarışmalı ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemiyle belirlendi. 20-HETE ölçümü için 20-HETE ELISA Kit (Detroit R&D, Inc., Detroit-20H1, MI, USA) kullanıldı.

Kit İçeriği:

- 20 HETE ELISA Plaka, 96 kuyucuklu
- 20 HETE Standartı (1 mg/mL), 2 µl
- 1,000X 20 HETE HRP Konjugat, 12 µl
- 10X Örnek Dilüsyon Tamponu, 25 ml
- HRP tamponu, 15 ml
- 10X Yıkama Tamponu Çözeltilisi, 25 ml
- Tetra methyl benzadine (TMB) Substrat, 24 ml

Doku Örneklerinin Hazırlanması

-80°C’de saklanan damar dokularının buz üzerinde çözülmesi sağlandı. Hassas terazi kullanılarak dokuların tartımı yapıldı. Daha etkili bir homojenizasyon için, dokular buz üzerindeki saat camında kıvrık uçlu mikrodiseksiyon makası kullanılarak küçük parçalara ayrıldı. Her bir örnek, doku kaybı yaşanmamasına özen gösterilerek 1 ml’lik ependorflara aktarıldı. 1 g doku başına 0,01 mg triphenylphosphine (TPP) içeren 4 ml H₂O ile dokular homojenize edildi. Her homojenata 8 µl asetik asit eklenerek homojenat asitleştirildi. Ardından eşit miktarda etil asetat ile ekstraksiyon yapıldı. Bu ekstraksiyon işlemi üç kez tekrarlanıp organik fazların tümü birleştirildi. Organik faz azot gazı ile uçuruldu. Uçurma işleminden sonra geriye kalan kurumuş artık maddenin yeniden çözülmesi için 20 µl N, N-dimethyl-formamide (dmf) eklendi. Son olarak örnekler yaklaşık 0.5 mL 1x örnek dilüsyon tamponu ilave edilip, oda sıcaklığında beş dakika süreyle 10,000 rpm’de santrifüj gerçekleştirildi. Süpernatant ELISA ölçümü için kullanıldı. Ayrıca elde edilen süpernatanda protein konsantrasyonu Bradford yöntemi esas alınarak ticari protein kiti (Thermo Scientific-23236, Rockford, IL, USA) ile belirlendi.

Deney Prosedürü

1. 200 µl Örnek Dilüsyon Tamponu boş kontrol (BL) kuyucuklara ve 100 µl Örnek Dilüsyon Tamponu, maksimum bağlayıcı (BO) kuyucuklara yüklendi.
2. Standartların ve numunelerin her birinden 100 µl uygun kuyucuklara yüklendi.
3. Boş kontrol kuyuları hariç 100 µl 1X-HRP konjugatı tüm kuyucuklara ilave edildi.
4. Plaka iki saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi.
5. Plaka üç kez 400 µl 1X Yıkama tamponu ile iyice yıkandı.
6. Üç yıkama döngüsünün sonunda plaka kağıt havlu üzerine kurutuldu.
7. Tüm kuyucuklara 200 µl TMB substratı eklendi
8. Plaka oda sıcaklığında 15-30 dakika boyunca inkübe edildi.
9. Tüm kuyucuklara 50 µl 2 N sülfürik asit eklendi.
10. Plaka 450 nm’de okundu.
11. Standart eğri çizildikten sonra dokulardaki 20-HETE miktarı hesaplandı. Bu değer aynı dokuda ölçülen protein miktarına bölünerek damarlardaki 20-HETE düzeyi ng/mg olarak ifade edildi.

3.6.2 Western Blot Analizi

Doku Örneklerinin Hazırlanması

Çalışmamızda CYP4A protein ekspresyonu Western blot analiziyle saptanmıştır. Öncelikle doku örneklerinin hazırlanması için -80°C’de saklanan torasik aortun, gastrokinemius kası direnç damarlarının ve mezenter yatak direnç damarlarının buz üzerinde çözülmesi sağlandı. Aynı grupta yer alan hayvanların damarları üçlü gruplar oluşturacak şekilde birleştirildi. Hassas terazi yardımıyla dokuların tartımı yapıldı. Damar örnekleri buz üzerindeki saat camına alındı ve ince kıvrık uçlu mikrodiseksiyon makası kullanılarak küçük parçalara ayrıldı. Her bir örnek, doku kaybı yaşanmamasına özen gösterilerek 1 ml’lik ependorflara aktarıldı ve önceden hesaplanmış ağırlıklar dikkate alınarak 0,2 g doku için 600 µl lysis tamponu ve 10 µl proteaz inhibitör kokteyl (Sigma P2714, St. Louis, MO, USA) olacak şekilde dokuların üzerlerine eklendi. Karışım vortekslendikten sonra 1 saat boyunca buz üstünde bekletildi. Bu sürenin sonunda karışım 10 saniyelik sonikasyonun ardından 25 dk-15000 g’de +4°C de santrifüj edildi. Süpernatant yeni ependorfa alındı ve örneklerin protein konsantrasyonu Bradford yöntemi esas alınarak spektrofotometrik olarak ticari protein kiti (Thermo Scientific-23236, Rockford, IL, USA) ile belirlendi. Sodyum dodesil sulfat (SDS) jelle yüklenme yapılmadan önce aynı miktarda protein içeren örneklerle 2x laemli eklendi, sonrasında 5 dk boyunca 95-100°C’lik suda kaynatıldı ve kısa bir santrifüjden (5 dk–8000 rpm) sonra örnekler yüklemeye hazır hale geldi.

Elektroforez ve Yarı Kuru Transfer

Elde edilen proteinin moleküler boyutuna göre jelin % kaçlık olacağına karar verildi. %10’luk poliakrilamid alt jel hazırlanarak önceden sıkıştırılmış olan camların arasına döküldü ve yaklaşık 40 dk sonra alt jelin donduğu gözlemlendi. Sonrasında üst jel pipetle hızlıca ve hava kabarcığı oluşturmada eklendi ve örneklerin yükleneceği taraklar yerleştirildi. Üst jel de donduktan sonra taraklar çıkartıldı ve kuyucukların düzgün olup olmadığı kontrol edildi. Camlar elektroforez tankına alınıp moleküler ağırlık standardı (Thermo Scientific-26612, Rockford, IL, USA) ve eşit miktarda (50 µg) protein içeren örnekler jel üzerindeki kuyucuklarına pipet yardımıyla yüklendi. Yürütme işlemi oda ısısında yaklaşık 3-3,5 saat süresince 80 volt’ta yapıldı. Sonrasında jel camdan ayrılarak transfer aşamasına geçildi. Bir miktar transfer çözeltisi, derinliği fazla olmayan geniş bir kaba alındı. Kaset, içi transfer solüsyonu

ile dolu bu kaba konularak siyah yüze (negatif taraf) sünger, iki adet Whatman kağıdı ve jel yerleştirildi. PVDF (Polyvinylidene difluoride) (Biorad-162-0177, Hercules, CA, USA) membran uygun boyutta kesilerek %100 metanol içinde 15 saniye, daha sonra transfer solüsyonu içerisinde 15 dk hidrate edildi. Bu süre sonunda arada hava kabarcıklarının kalmamasına dikkat edilerek PVDF membran jel üzerine yerleştirildi. Membranın üzerine de iki adet Whatman kağıdı ve sünger konuldu ve plastik klamp ile kaset kapatıldı. Kaset dikey olarak, renksiz yüzü elektrot modülünün kırmızı kısmına, siyah kısmı elektrot modülünün siyah kısmına bakacak şekilde yerleştirildi. Sonrasında tüm sistem (elektrod modülü ve kaset) tanka yerleştirildi ve tankın kapağı kapatıldı. Güç kaynağı açılarak 32 volta ayarlandı ve jelde moleküler ağırlıklarına göre ayrılmış proteinlerin PVDF membrana transfer işlemi +4°C’de, gece boyu 32 volt uygulanarak gerçekleştirildi.

Western Blotlama

Elektroblot uygulamasıyla proteinler PVDF membrana aktarıldıktan sonra, membranla antikorlar arasındaki nonspesifik bağlanmaları en aza indirmek için membranlar % 5’lik yağsız süt tozu içeren TBS-T (%0,1 Tween-20 içeren TBS) tamponu ile 1 saat oda ısısında çalkalanarak bekletildi. % 5’lik yağsız süt tozu ile bloklama işleminden hemen sonra membranlar %5’lik süttozu içeren TBS-T içinde 1:1000 oranında seyreltilmiş CYP4A primer antikor (Santa Cruz Biotechnology, sc-271983, CA, USA) veya 1:1000 dilüsyonda hazırlanmış β -aktin (Abcam, ab16039, Cambridge, UK) primer antikor ile gece boyunca, 4°C’de, çalkalayıcı üzerinde inkübe edildi. Ardından membranlar TBS-T ile 1 saat boyunca 15 dk x4 kez yıkandı ve %5’lik süttozu içeren TBS-T solüsyonu içinde 1:80000 oranında seyrelmiş horseradish peroksidaz bağlı sekonder antikor (Sigma-A0168, St. Louis, MO, USA) ile 1 saat oda sıcaklığında çalkalanarak inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrası membranlar 1 saat boyunca 15 dk x4 kez TBS-T ile yıkandı ve görüntülemeye hazır hale getirildi.

Görüntüleme ve Analiz

Sekonder antikorla konjuge peroksidaz enziminin, kemiluminisans oluşturan ürünü için substrat içeren 2 ml ECL karışımı (Thermo scientific-32132, Rocford, IL, USA) PVDF membranların üzerine uygulandı. 5 dk karanlık ortamda bekleme sürecinden sonra membranların üzerindeki fazla ECL solüsyonu kurutma kağıdı yardımıyla

alındı. Membranlar kaset içerisindeki poşet dosyaya alındı. Poşet ile membran arasında hava kabarcığının kalmamasına dikkat edildi. Moleküler belirteç işaretlendi. Karanlık odada da kırmızı ışık açılarak kaset içerisindeki poşetin içinde bulunan membranın üzerine fotoğraf filmi (GE Healthcare Life Sciences, Amersham-28906836, Buckinghamshire, UK) konuldu, kaset kapatıldı. Filmler uygun sürelerde membrana tutuldu ve kasetten dikkatlice ayrılan film developer solüsyonuna sonrasında da fiksatif solüsyonuna alındı. En son olarak film distile su ile durulandı ve oda ısısında kurutuldu.

Görüntülerin yarı-kantitatif analizi için bilgisayar ortamına aktarılan film paternleri bilgisayar yazılımı yardımıyla değerlendirildi (image J paket programı). Sonuçlar CYP4A/ β -aktin, şeklinde β -aktin proteinin miktarına oranlanarak ayrı ayrı hesaplanarak ifade edildi.

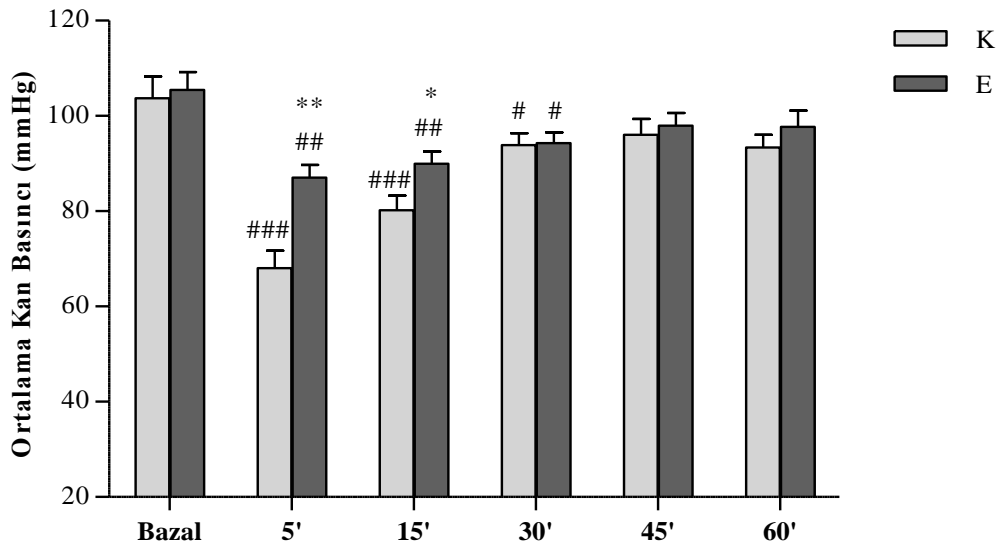
3.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda elde edilen veriler ortalama \pm standart hata olarak verildi. Tekrarlayan ölçümlerle elde edilen farklı ajan dozlarındaki kasılma ve gevşeme cevaplarının değerlendirilmesinde tekrarlayan ölçümlerin varyans analizi (two-way repeated measures anova) kullanıldı. Maksimum kasılma ve gevşeme yanıtlarında (Emax), kan basıncı, western blot analizi ve sitrat sentaz aktivitesinin gruplar arası değerlendirilmesinde t testi, grup içi değerlendirilmesinde ise eşleştirilmiş t testi kullanıldı. İstatistiksel önemlilik derecesi $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. *In vivo* Çalışma Ortalama Kan Basıncı Değerleri

8 haftalık egzersiz periyodu sonrasında egzersiz ve kontrol grubunda ortalama kan basıncı değerleri Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Bazal kan basıncı değerlerinde kontrol ve egzersiz grupları arasında anlamlı bir fark yoktu. 20-HETE üretim inhibitörü olan HET0016’nın 5 mg/kg dozunda intravenöz olarak uygulanmasının ardından 5, 15 ve 30 dakikanın sonunda (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p<0,05$), K grubunda ortalama kan basıncı bazal ölçüme oranla anlamlı olarak düşük saptandı. E grubunda da 5, 15 ve 30 dakikanın sonunda (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,01$ ve $p<0,05$) kan basıncı bazale kıyasla anlamlı olarak azaldı. HET0016 uygulaması ardından 5 ve 15 dakika sonrasında egzersiz grubundaki kan basıncı düşüşü, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az baskılandı (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,05$).



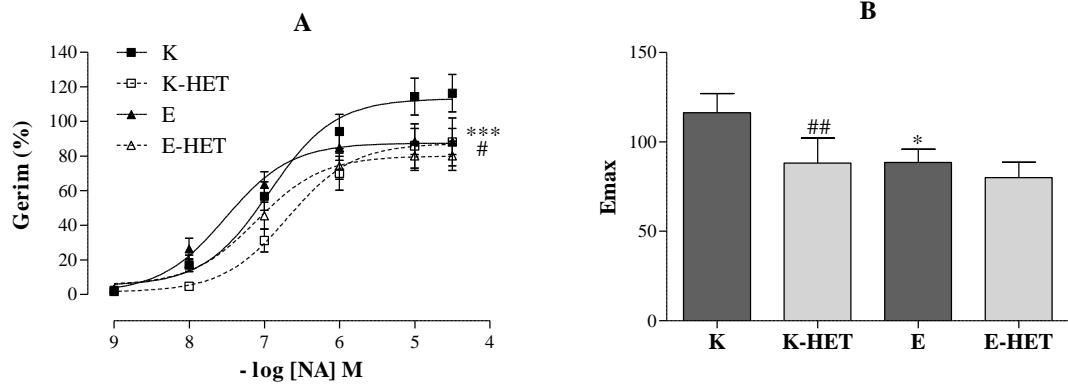
Şekil 4.1 Ortalama kan basıncı değerleri. Grup içi bazal değerden fark; # $p<0,05$, ## $p<0,01$, ### $p<0,001$. Aynı zaman diliminde gruplar arası fark; * $p<0,05$, ** $p<0,01$

4.2. *Ex vivo* Çalışma Torasik Aort Yanıtları

4.2.1. Torasik Aort Noradrenalin Kasılma Yanıtı

Damarların kümülatif olarak 10^{-9} – 3×10^{-5} M dozlarda noradrenaline (NA) karşı verdikleri kasılma yanıtları, 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.2. A). E grubu doz yanıt eğrisi kasılma yanıtı K grubuna kıyasla istatistiksel olarak farklı bulundu ($p<0,001$). 20-HETE

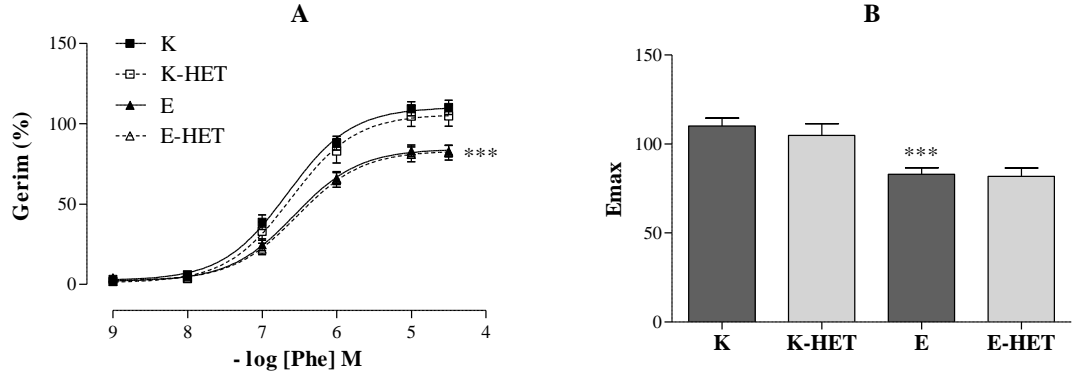
üretimi inhibisyonu sonrası K grubunda anlamlı kasılma baskılanması varken ($p<0,05$), E grubunda bir fark gözlenmedi. Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}) incelendiğinde (Şekil 4.2 B), E grubu E_{max} değeri K grubuna oranla anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,05$). 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası K grubunda E_{max} kasılma değeri anlamlı olarak baskılanırken ($p<0,01$), E grubunda bir fark gözlenmedi.



Şekil 4.2. Torasik aorta damarlarının noradrenalin (NA) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda NA'ya karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}). Gruplar arası NA'ya verilen kasılma yanıt farkı * $p<0,05$, *** $p<0,001$. HET0016 inkübasyonu sonrası grup içi kasılma yanıt farkı # $p<0,05$, ## $p<0,01$.

4.2.2. Torasik Aort Fenilefrin Kasılma Yanıtı

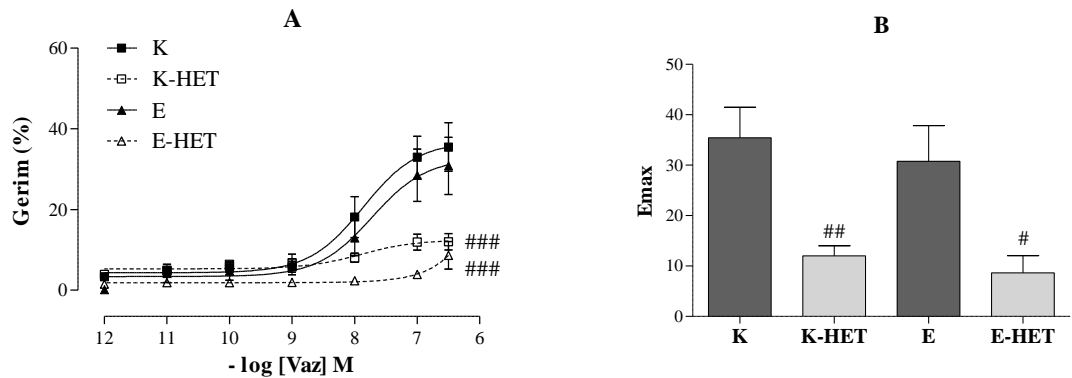
Damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda fenilefrine (Phe) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.3. A). E grubu doz yanıt eğrisi kasılma yanıtı K grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,001$). Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}) incelendiğinde (Şekil 4.3. B), E grubu E_{max} değeri K grubuna oranla anlamlı olarak düşük saptandı ($p<0,001$). Her iki grupta 20-HETE üretim inhibisyonunun hem doz yanıt eğrilerinde hem de E_{max} değerlerinde Phe yanıtlarında bir etkisi gözlenmedi.



Şekil 4.3. Torasik aorta damarlarının fenilefrin (Phe) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda Phe'ne karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax). Gruplar arası Phe'ne verilen kasılma yanıt farkı *** $p < 0,001$.

4.2.3. Torasik Aort Vazopresin Kasılma Yanıtı

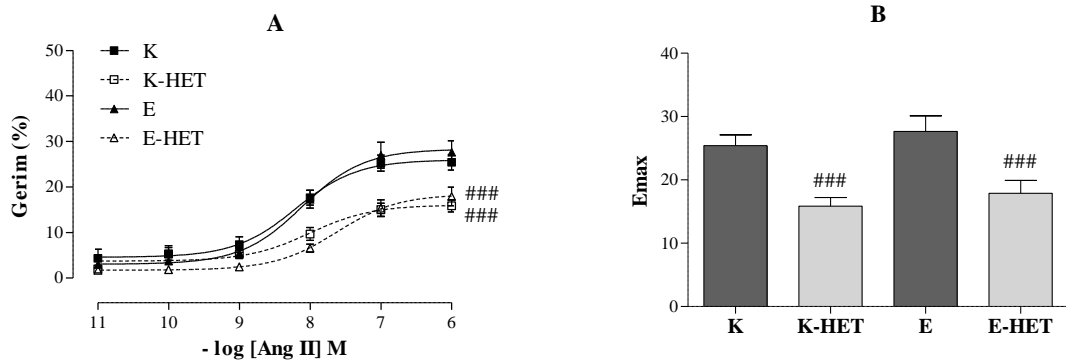
Damarların kümülatif olarak 10^{-12} - 3×10^{-7} M dozlarda vazopresine (Vaz) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.4. A). K ve E grupları arasında doz yanıt eğrisi kasılma yanıtları açısından bir fark gözlenmedi. 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası her iki grupta da anlamlı kasılma baskılanması saptandı ($p < 0,001$). Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax) incelendiğinde (Şekil 4.4. B), K ve E grupları arasında Emax kasılma değerleri açısından bir fark gözlenmedi. 20-HETE üretim inhibisyonu sonrası K ve E gruplarında anlamlı Emax kasılma baskılanması saptandı ($p < 0,01$ ve $p < 0,05$).



Şekil 4.4. Torasik aorta damarlarının vazopresin (Vaz) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-12} - 3×10^{-7} M dozlarda Vaz'ne karşı verilen kasılma yanıtları. HET0016 inkübasyonu sonrası grup içi kasılma yanıt farkı # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$.

4.2.4. Torasik Aort Anjiyotensin II Kasılma Yanıtı

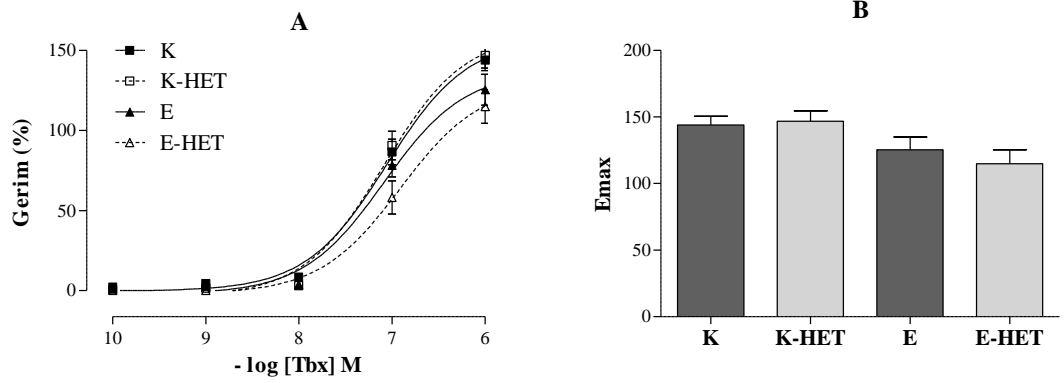
Damarların kümülatif olarak 10^{-11} – 10^{-6} M dozlarda anjiyotensin II (Ang II)'ye karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.5. A). K ve E grupları arasında doz yanıt eğrisi kasılma yanıtları açısından bir fark gözlenmedi. 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası her iki grupta da anlamlı kasılma baskılanması saptandı ($p<0,001$). Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}) incelendiğinde (Şekil 4.5. B), K ve E grupları arasında E_{max} kasılma değerleri açısından bir fark gözlenmedi. 20-HETE üretim inhibisyonu sonrası K ve E gruplarında anlamlı E_{max} kasılma baskılanması saptandı ($p<0,001$).



Şekil 4.5 Torasik aorta damarlarının anjiyotensin II (Ang II) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-11} - 10^{-6} M dozlarda Ang II'ye karşı verilen kasılma yanıtları. HET0016 inkübasyonu sonrası grup içi kasılma yanıt farkı, ### $p<0,001$.

4.2.5. Torasik Aort Tromboksan A2 agonisti Kasılma Yanıtı

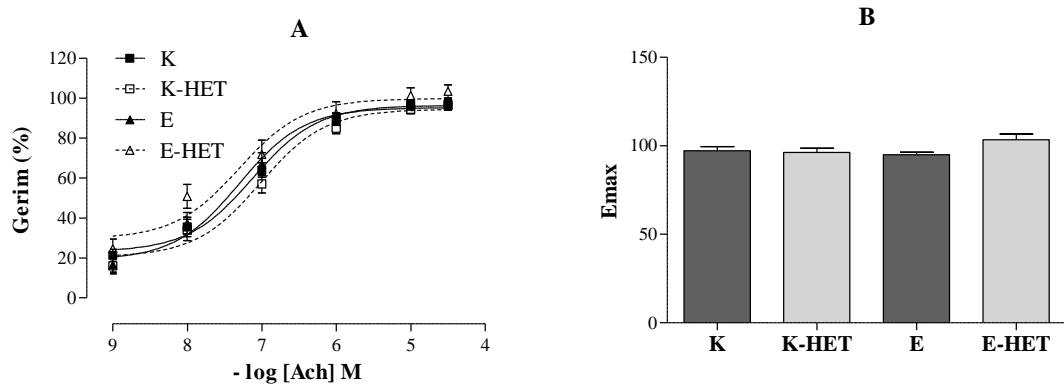
Damarların kümülatif olarak 10^{-10} – 10^{-6} M dozlarda Tromboksan A2 agonistine (U-46619) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi. Doz yanıt eğrileri kasılma yanıtı ve E_{max} değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6 Torasik aorta damarlarının tromboksan A2 agonisti (U-46619) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-10} - 10^{-6} M dozlarda U-46619'a karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax)

4.2.6. Torasik Aort Asetilkolin Gevşeme Yanıtı

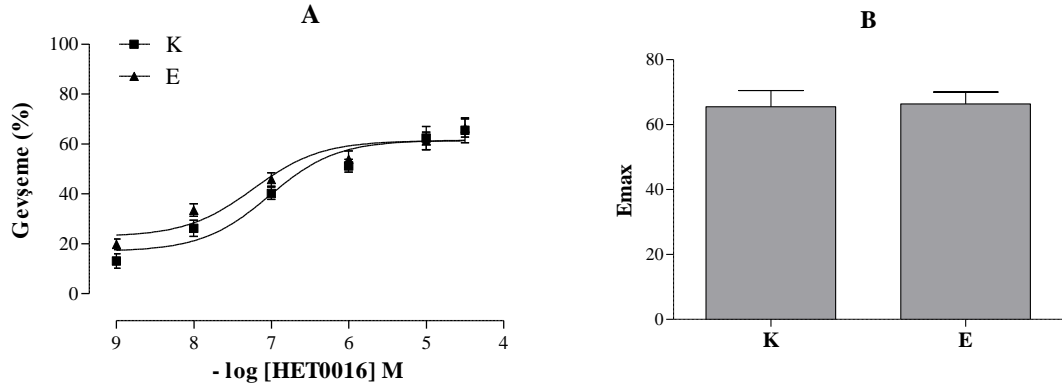
Submaksimal dozda fenilefrin ile kasılmayı takiben damarların kümülatif olarak 10^{-9} – 3×10^{-5} M dozlarda asetilkoline (Ach) karşı verdikleri gevşeme yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi. Doz yanıt eğrileri gevşeme yanıtı ve Emax değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Torasik aorta damarlarının asetilkolin (Ach) aracılı gevşeme yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda Ach'ne karşı verilen gevşeme yanıtları. B: Damarların maksimal gevşeme yanıtları (Emax).

4.2.7. Torasik Aort HET0016 Doz Yanıtı

Submaksimal dozda fenilefrin ile kasılmayı takiben damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda HET0016'ya karşı verdikleri gevşeme yanıtları kaydedildi. Doz yanıt eğrileri gevşeme yanıtı ve Emax değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.8.).

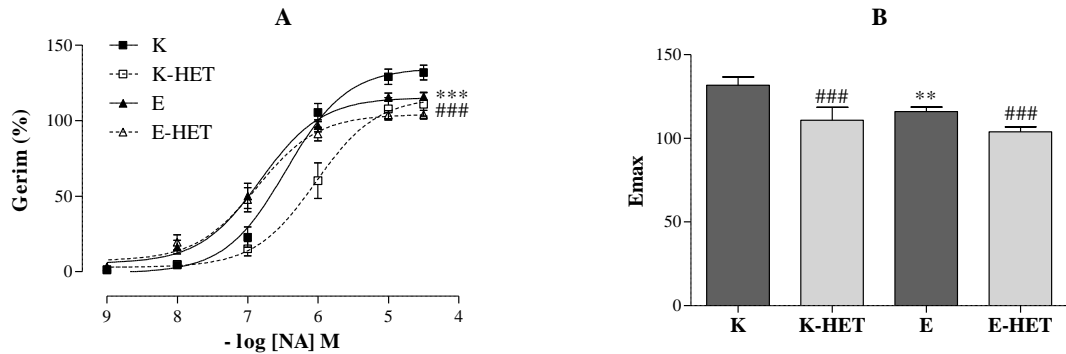


Şekil 4.8. Torasik aorta damarlarının HET0016 aracılı gevşeme yanıtları. A: Damarların kümülatif olarak $10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M dozlarda HET0016'ya karşı verilen gevşeme yanıtları. B: Damarların maksimal gevşeme yanıtları (Emax).

4.3. *Ex vivo* Çalışma Gastrokinemius Direnç Damarları Yanıtları

4.3.1. Gastrokinemius Direnç Damarları Noradrenalin Kasılma Yanıtı

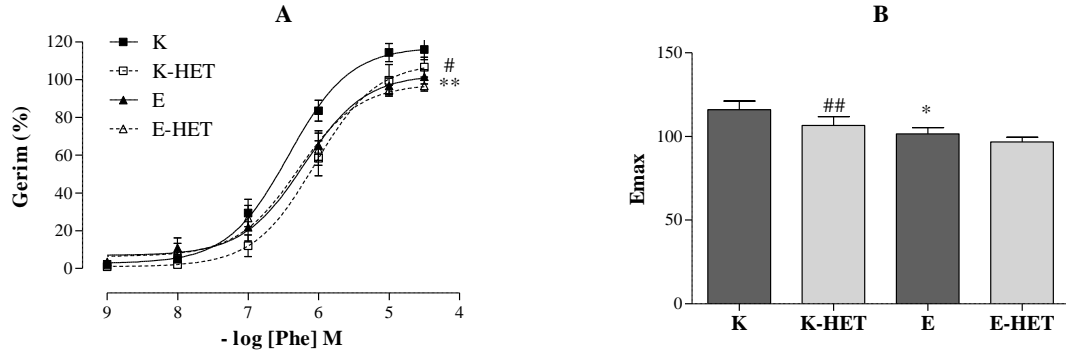
Damarların kümülatif olarak $10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M dozlarda noradrenaline (NA) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.9. A). E grubu doz yanıt eğrisi kasılma yanıtı K grubuna kıyasla istatistiksel olarak farklı bulundu ($p < 0,001$). 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası K grubunda anlamlı kasılma baskılanması varken ($p < 0,001$), E grubunda bir fark gözlenmedi. Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax) incelendiğinde (Şekil 4.9. B), E grubu Emax değeri K grubuna oranla anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,01$). 20-HETE üretim inhibisyonu sonrası her iki grupta da anlamlı Emax kasılma baskılanması saptandı ($p < 0,001$).



Şekil 4.9. Gastrokinemius direnç damarlarının noradrenalin (NA) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak $10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M dozlarda NA'ya karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax). Gruplar arası NA'ne verilen kasılma yanıt farkı ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$. HET0016 inkübasyonu sonrası grup içi kasılma yanıt farkı ### $p < 0,001$.

4.3.2. Gastrokinemius Direnç Damarları Fenilefrin Kasılma Yanıtı

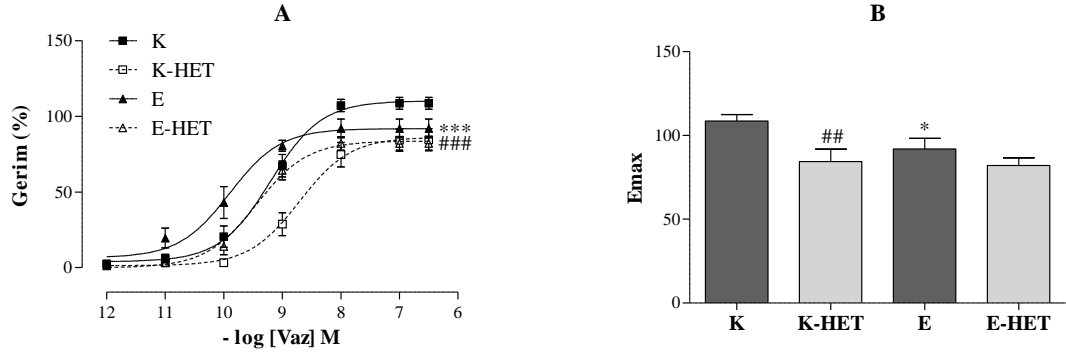
Damarların kümülatif olarak 10^{-9} – 3×10^{-5} M dozlarda fenilefrine (Phe) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.10. A). E grubu doz yanıt eğrisi kasılma yanıtı K grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulundu ($p < 0,01$). 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası K grubunda anlamlı kasılma baskılanması varken ($p < 0,05$), E grubunda bir fark gözlenmedi. Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}) incelendiğinde (Şekil 4.10. B), E grubu E_{max} değeri K grubuna oranla anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,05$). 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası K grubunda E_{max} kasılma değeri anlamlı olarak baskılanırken ($p < 0,01$), E grubunda bir fark gözlenmedi.



Şekil 4.10. Gastrokinemius direnç damarlarının fenilefrin (Phe) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda Phe'ne karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}). Gruplar arası Phe'ne verilen kasılma yanıt farkı * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$. HET0016 inkübasyonu sonrası grup içi kasılma yanıt farkı # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$.

4.3.3. Gastrokinemius Direnç Damarları Vazopresin Kasılma Yanıtı

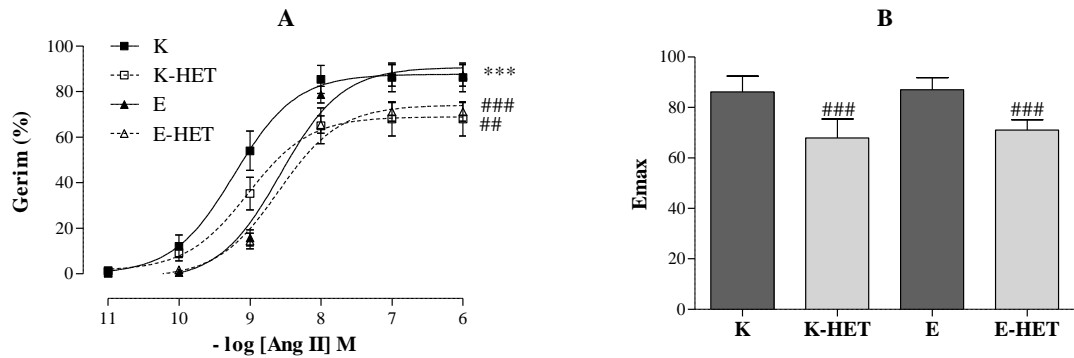
Damarların kümülatif olarak 10^{-12} - 3×10^{-7} M dozlarda vazopresine (Vaz) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.11. A). E grubu doz yanıt eğrisi kasılma yanıtı K grubuna kıyasla istatistiksel olarak farklı bulundu ($p < 0,001$). 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası K grubunda anlamlı kasılma baskılanması varken ($p < 0,001$), E grubunda bir fark gözlenmedi. Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}) incelendiğinde (Şekil 4.11. B), E grubu E_{max} değeri K grubuna oranla anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,05$). 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası K grubunda E_{max} kasılma değeri anlamlı olarak baskılanırken ($p < 0,01$), E grubunda bir fark gözlenmedi.



Şekil 4.11. Gastrokinemius direnç damarlarının vazopresin (Vaz) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-12} - 3×10^{-7} M dozlarda Vaz'ne karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax). Gruplar arası Vaz'ne verilen kasılma yanıt farkı * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$. HET0016 inkübasyonu sonrası grup içi kasılma yanıt farkı ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$.

4.3.4. Gastrokinemius Direnç Damarları Anjiyotensin II Kasılma Yanıtı

Damarların kümülatif olarak 10^{-11} - 10^{-6} M dozlarda anjiyotensin II (Ang II)'ye karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.12. A). E grubu doz yanıt eğrisi kasılma yanıtı K grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulundu ($p < 0,001$). 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası K ve E gruplarında anlamlı kasılma baskılanması saptandı (sırasıyla $p < 0,01$, $p < 0,001$). Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax) incelendiğinde (Şekil 4.12. B), K ve E grupları arasında Emax kasılma değerleri açısından bir fark saptanmadı. 20-HETE üretim inhibisyonu sonrası her iki grupta da anlamlı Emax kasılma baskılanması saptandı ($p < 0,001$).

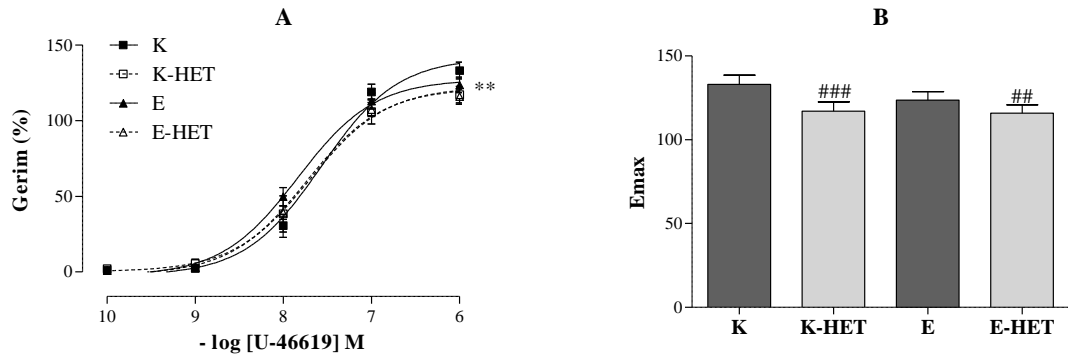


Şekil 4.12. Gastrokinemius direnç damarlarının anjiyotensin II (Ang II) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-11} - 10^{-6} M dozlarda Ang II'ye karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax). Gruplar arası Ang II'ye verilen kasılma yanıt farkı *** $p < 0,001$. HET0016 inkübasyonu sonrası grup içi kasılma yanıt farkı ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$.

4.3.5. Gastrokinemius Direnç Damarları Tromboksan A2 agonisti Kasılma

Yanıtı

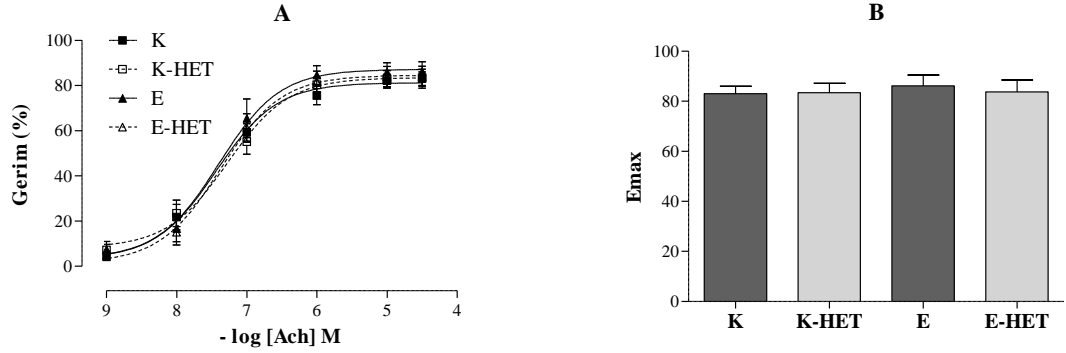
Damarların kümülatif olarak 10^{-10} – 10^{-6} M dozlarda tromboksan A2 agonistine (U-46619) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.13. A). E grubu doz yanıt eğrisi kasılma yanıtı K grubuna kıyasla istatistiksel olarak farklı bulundu ($p<0,01$). 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası K ve E gruplarında anlamlı bir fark saptanmadı. Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}) incelendiğinde (Şekil 4.13. B), K ve E grupları arasında E_{max} kasılma değerleri açısından bir fark gözlenmedi. 20-HETE üretim inhibisyonu sonrası K ve E gruplarında anlamlı E_{max} kasılma baskılanması saptandı (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,01$).



Şekil 4.13. Gastrokinemius direnç damarlarının tromboksan A2 agonisti (U-46619) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-10} - 10^{-6} M dozlarda U-46619'a karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}) Gruplar arası U-46619'a verilen kasılma yanıt farkı ** $p<0,01$. HET0016 inkübasyonu sonrası grup içi kasılma yanıt farkı ## $p<0,01$, ### $p<0,001$.

4.3.6. Gastrokinemius Direnç Damarları Asetilkolin Gevşeme Yanıtı

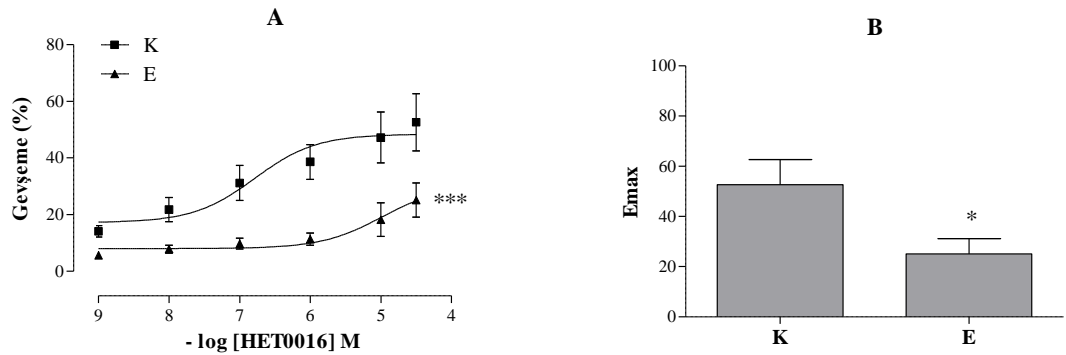
Submaksimal dozda Phe ile kasılmayı takiben damarların kümülatif olarak 10^{-9} – 3×10^{-5} M dozlarda asetilkoline (Ach) karşı verdikleri gevşeme yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi. Doz yanıt eğrileri gevşeme yanıtı ve E_{max} değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. Gastrokinemius direnç damarlarının asetilkolin (Ach) aracılı gevşeme yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda Ach'ne karşı verilen gevşeme yanıtları. B: Damarların maksimal gevşeme yanıtları (Emax).

4.3.7. Gastrokinemius Direnç Damarları HET0016 Doz Yanıtı

Submaksimal dozda fenilefrin ile kasılmayı takiben damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda HET0016'ya karşı verdikleri gevşeme yanıtları kaydedildi. E grubu doz yanıt eğrisi gevşeme yanıtı K grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulundu (Şekil 4.15. A). Damarların maksimal gevşeme yanıtları (Emax) incelendiğinde (Şekil 4.15. B), E grubu Emax değeri K grubuna oranla anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,05$).



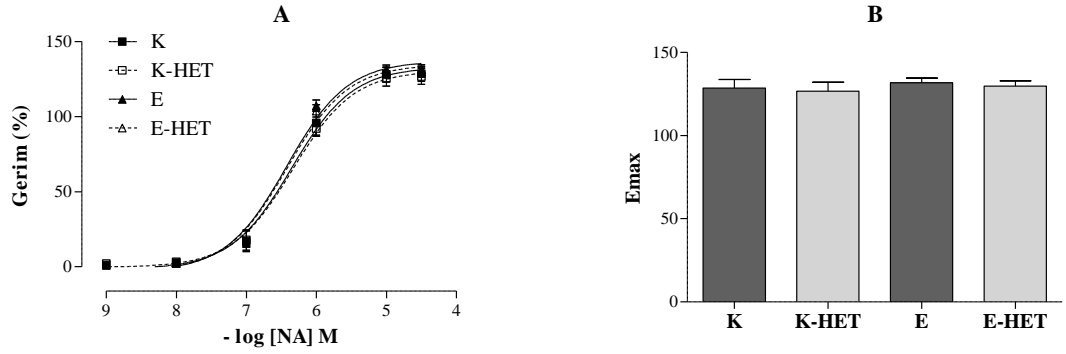
Şekil 4.15. Gastrokinemius direnç damarlarının HET0016 aracılı gevşeme yanıtları. A: Damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda HET0016'ya karşı verilen gevşeme yanıtları. B: Damarların maksimal gevşeme yanıtları (Emax). Gruplar arası Ach'ne verilen gevşeme yanıt farkı * $p < 0,05$

4.4. Ex vivo Çalışma Mezenter Yatak Direnç Damarları Yanıtları

4.4.1. Mezenter Direnç Damarları Noradrenalin Kasılma Yanıtı

Damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda noradrenaline (NA) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi. Doz yanıt eğrileri kasılma yanıtı ve Emax değerleri

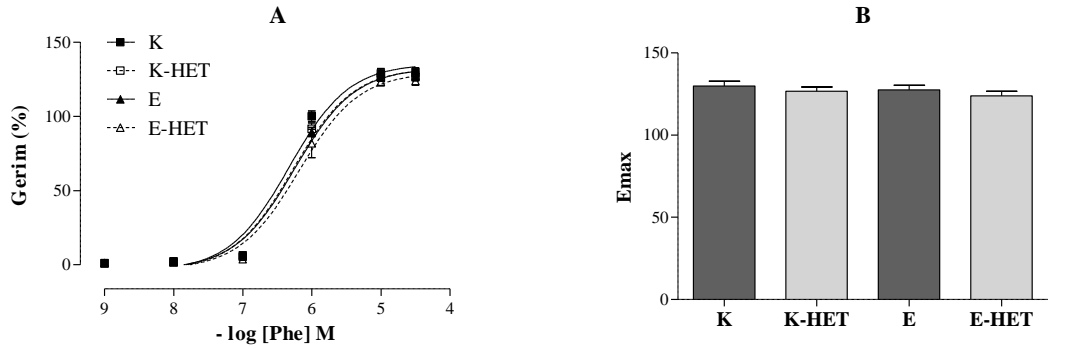
incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.16.).



Şekil 4.16. Mezenter direnç damarlarının noradrenalin (NA) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda NA'e karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax).

4.4.2. Mezenter Direnç Damarları Fenilefrin Kasılma Yanıtı

Damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda fenilefrine (Phe) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi. Doz yanıt eğrileri kasılma yanıtı ve Emax değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.17.).

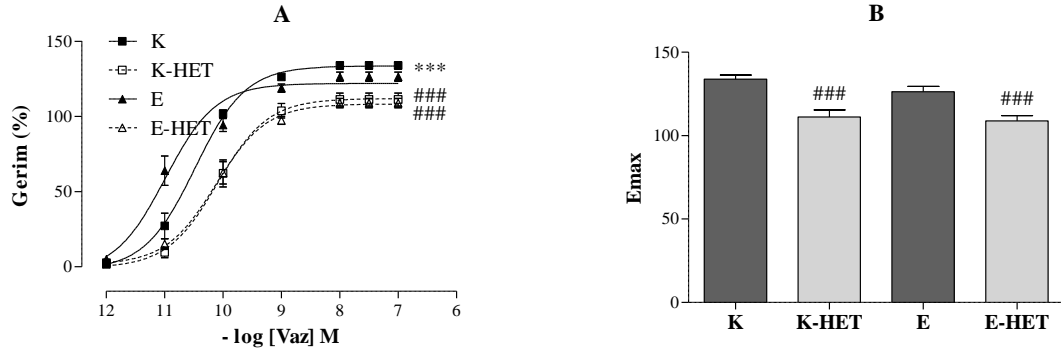


Şekil 4.17. Mezenter direnç damarlarının fenilefrin (Phe) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda Phe'ne karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax).

4.4.3. Mezenter Direnç Damarları Vazopresin Kasılma Yanıtı

Damarların kümülatif olarak 10^{-12} - 3×10^{-7} M dozlarda vazopresine (Vaz) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.18. A). E grubu doz yanıt eğrisi kasılma yanıtı K grubuna kıyasla istatistiksel olarak farklı bulundu ($p < 0,001$). 20-HETE

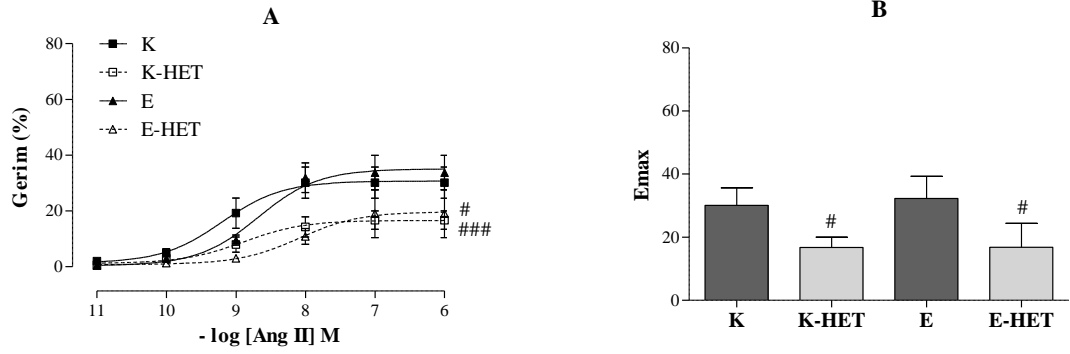
üretimi inhibisyonu sonrası her iki grupta anlamlı kasılma baskılanması saptandı ($p<0,001$). Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}) incelendiğinde (Şekil 4.18. B), K ve E grupları arasında E_{max} kasılma değerleri açısından bir fark gözlenmedi. 20-HETE üretim inhibisyonu sonrası her iki grupta da anlamlı E_{max} kasılma baskılanması saptandı ($p<0,001$).



Şekil 4.18. Mezenter direnç damarlarının vazopresin (Vaz) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-12} - 3×10^{-7} M dozlarda Vaz'ne karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}). Gruplar arası Vaz'ne verilen kasılma yanıt farkı *** $p<0,001$. HET0016 inkübasyonu sonrası grup içi kasılma yanıt farkı ### $p<0,001$.

4.4.4. Mezenter Direnç Damarları Anjiyotensin II Kasılma Yanıtı

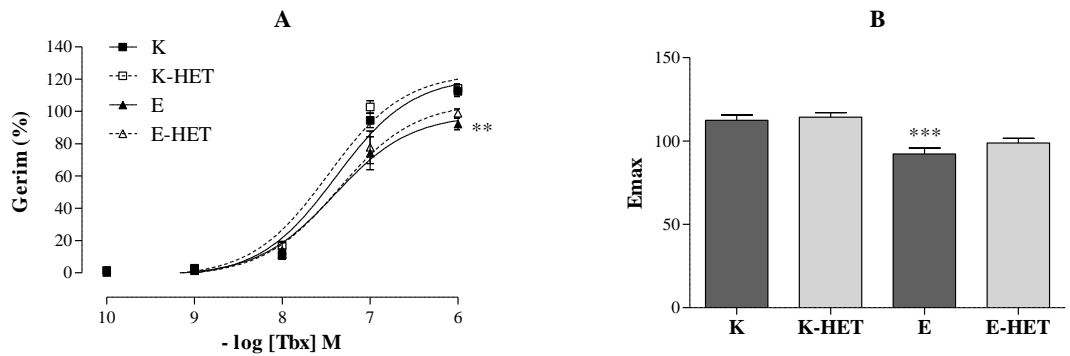
Damarların kümülatif olarak 10^{-11} – 10^{-6} M dozlarda anjiyotensin II (Ang II)'ye karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.19. A). K ve E grupları arasında doz yanıt eğrisi kasılma yanıtları açısından bir fark gözlenmedi. 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası K ve E gruplarında anlamlı kasılma baskılanması saptandı (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,05$) anlamlı olarak azalma saptandı. Damarların maksimal kasılma yanıtları (E_{max}) incelendiğinde (Şekil 4.19. B), K ve E grupları arasında E_{max} kasılma değerleri açısından bir fark gözlenmedi. 20-HETE üretim inhibisyonu sonrası her iki grupta da anlamlı E_{max} kasılma baskılanması saptandı ($p<0,05$).



Şekil 4.19. Mezenter direnç damarlarının anjiyotensin II (Ang II) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-11} - 10^{-6} M dozlarda Ang II'ye karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax). Gruplar arası Ang II'ye verilen kasılma yanıt farkı ** $p < 0,01$. HET0016 inkübasyonu sonrası grup içi kasılma yanıt farkı # $p < 0,05$, ### $p < 0,001$.

4.4.5. Mezenter Direnç Damarları Tromboksan A2 agonisti Kasılma Yanıtı

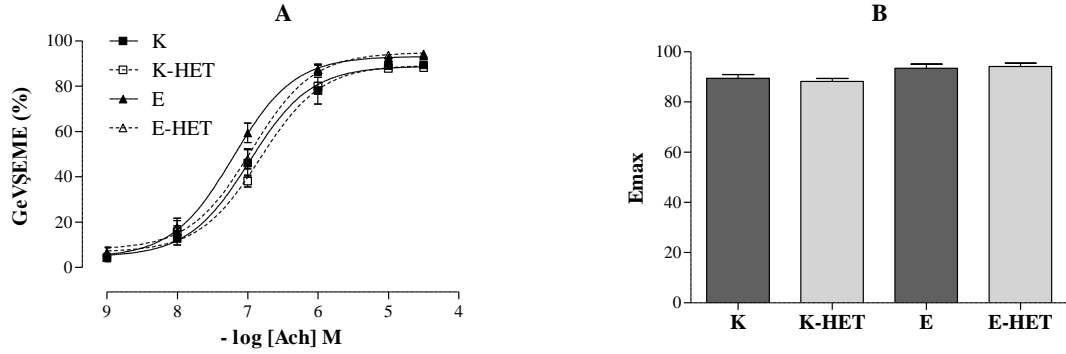
Damarların kümülatif olarak 10^{-10} – 10^{-6} M dozlarda tromboksan A2 agonistine (U-46619) karşı verdikleri kasılma yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi (Şekil 4.20. A). E grubu doz yanıt eğrisi kasılma yanıtı K grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulundu ($p < 0,01$). 20-HETE üretimi inhibisyonu sonrası K ve E gruplarında anlamlı bir fark saptanmadı. Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax) incelendiğinde (Şekil 4.20. B), E grubu Emax değeri K grubuna oranla anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,001$). Her iki grupta 20-HETE üretim inhibisyonunun U-46619 yanıtlarında bir etkisi gözlenmedi.



Şekil 4.20. Mezenter direnç damarlarının tromboksan A2 agonisti (U-46619) aracılı kasılma yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-10} - 10^{-6} M dozlarda U-46619'a karşı verilen kasılma yanıtları. B: Damarların maksimal kasılma yanıtları (Emax). Gruplar arası U46619'a verilen kasılma yanıt farkı ** $p < 0,01$.

4.4.6. Mezenter Direnç Damarları Asetilkolin Gevşeme Yanıtı

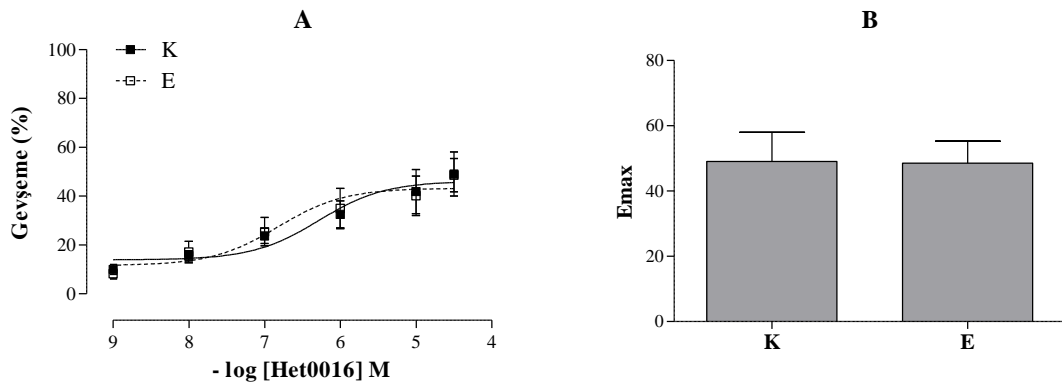
Submaksimal dozda Phe ile kasılmayı takiben damarların kümülatif olarak 10^{-9} – 3×10^{-5} M dozlarda asetilkoline (Ach) karşı verdikleri gevşeme yanıtları 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu öncesi ve sonrasında kaydedildi. Doz yanıt eğrileri kasılma yanıtı ve Emax değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.21.)



Şekil 4.21. Mezenter direnç damarlarının asetilkolin (Ach) aracılı gevşeme yanıtları. A: HET0016 (HET) varlığında ve yokluğunda damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda Ach'ne karşı verilen gevşeme yanıtları. B: Damarların maksimal gevşeme yanıtları (Emax) Gruplar arası Ach'ne verilen gevşeme yanıt farkı.

4.4.7. Mezenter Direnç Damarları HET0016 Doz Yanıtı

Submaksimal dozda fenilefrin ile kasılmayı takiben damarların kümülatif olarak 10^{-9} - 3×10^{-5} M dozlarda HET0016'ya karşı verdikleri gevşeme yanıtları kaydedildi. Doz yanıt eğrileri ve Emax değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.22.).



Şekil 4.22. Mezenter direnç damarlarının HET0016 aracılı gevşeme yanıtları. A: Damarların kümülatif olarak 10^{-9} – 3×10^{-5} M dozlarda HET0016'ya karşı verilen gevşeme yanıtları. B: Damarların maksimal gevşeme yanıtları (Emax).

4.5. Damar Yanıtlarının Özet Değerlendirilmesi

Torasik aorta, gastrokinemius ve mezenterik direnç damarlarından elde edilen kasılma ve gevşeme yanıtları bir tablo şeklinde özetlenmiştir (Tablo 4.1.). Tabloda E grubu doz yanıtlarında veya Emax değerlerinde K grubuna kıyasla anlamlı azalma “↓” işareti ile, gruplar arası fark olmaması ise “–” işareti ile gösterilmiştir. Aynı şekilde grupların 20-HETE üretim inhibitörü HET0016 inkübasyonu sonrasında doz yanıtlarında veya Emax değerlerinde anlamlı azalma “↓” işareti ile, fark olmaması ise “–” işareti ile gösterilmiştir.

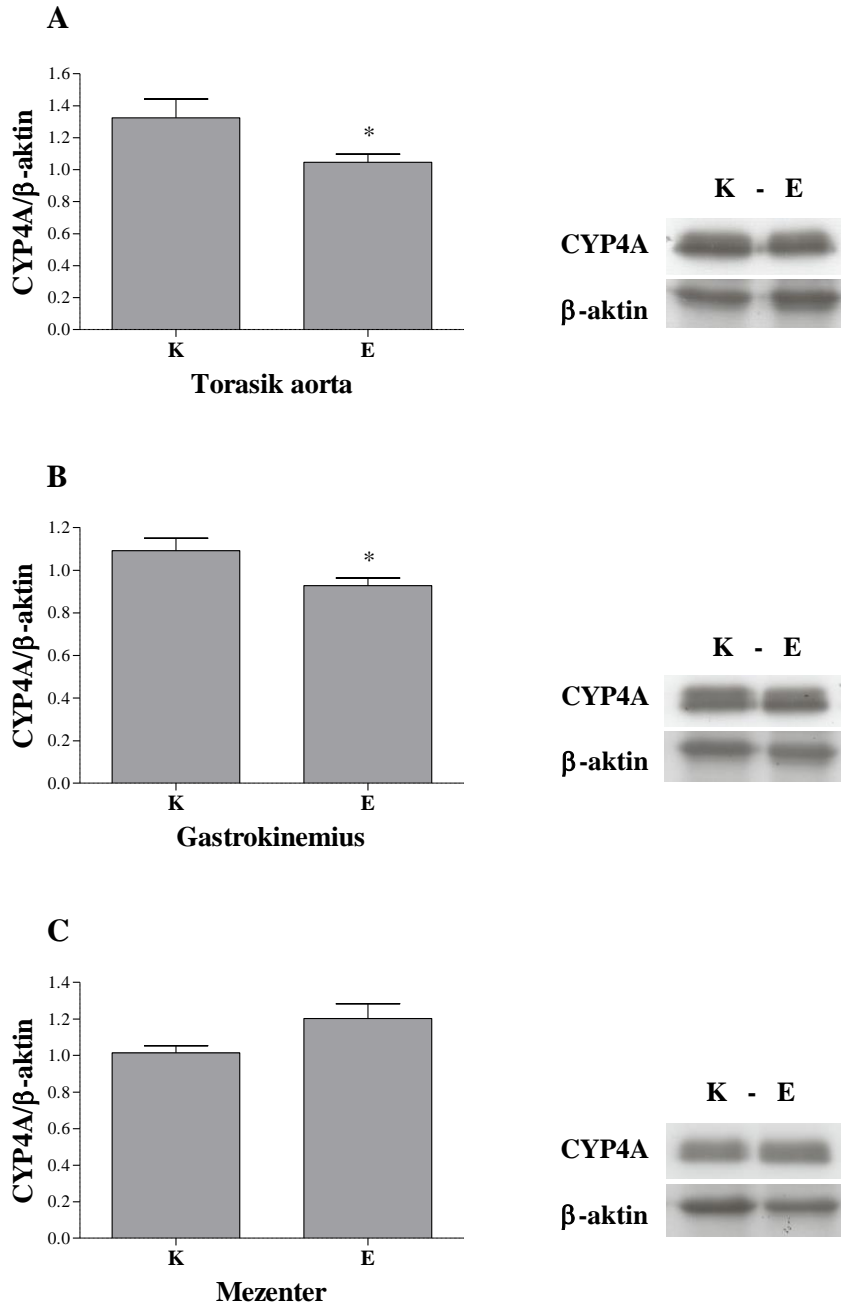
Tablo 4.1. Özet tablo

| Ajan | Torasik aorta | | | Gastrokinemius | | | Mezenter | | |
|---------|---------------|---------|---------|----------------|---------|---------|----------|---------|---------|
| | K & E | K&K-HET | E&E-HET | K & E | K&K-HET | E&E-HET | K & E | K&K-HET | E&E-HET |
| NA | ↓ | ↓ | – | ↓ | ↓ | ↓ | – | – | – |
| Phe | ↓ | – | – | ↓ | ↓ | – | – | – | – |
| Vaz | – | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | – | ↓ | ↓ | ↓ |
| Ang II | – | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | – | ↓ | ↓ |
| Tbx | – | – | – | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | – | – |
| Ach | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| HET0016 | – | | | ↓ | | | – | | |

4.6. Vasküler Dokuda 20-HETE Üretimi ve Düzeyi

4.6.1. Vasküler Dokuda CYP4A Ekspresyonu

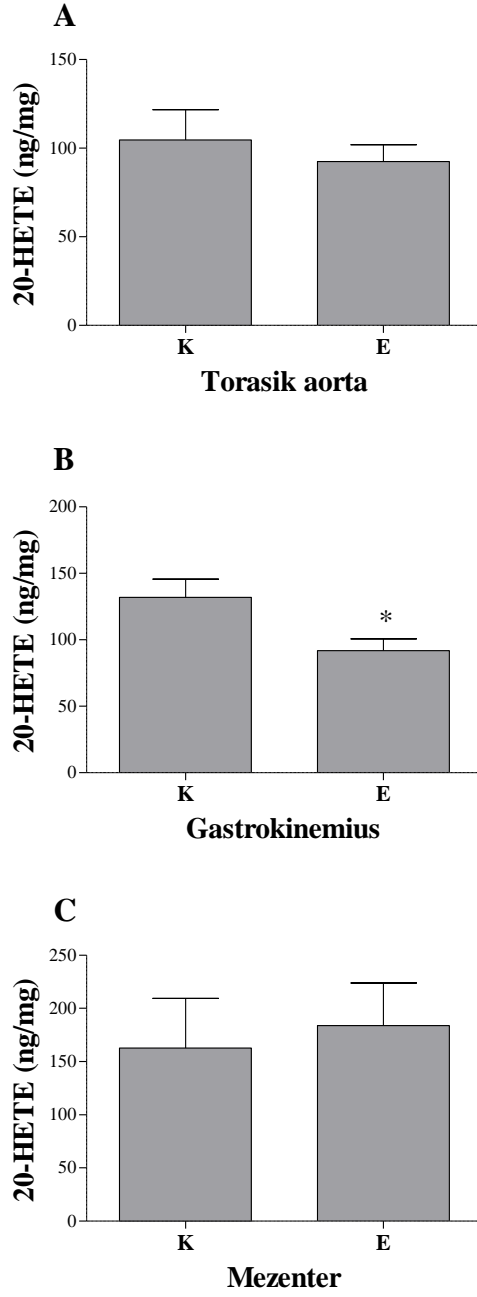
20-HETE üretiminden sorumlu enzim olan CYP4’nın ekspresyonu torasik aorta, gastrokinemius ve mezenter direnç damarlarında ölçüldü. CYP4A protein miktarı aynı dokuda ölçülen β -aktin miktarına oranlandı. Sonuçlar değerlendirildiğinde torasik aorta (Şekil 4.23. A) ve gastrokinemius direnç damarlarında (Şekil 4.23. B) E grubunda K grubuna kıyasla CYP4A ekspresyonunda anlamlı azalma bulundu ($p<0,05$). Mezenter direnç damarlarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı (Şekil 4.23. C).



Şekil 4.23. Torasik aorta, gastrokinemius ve mezenter direnç damarlarında CYP4A ekspresyonu. K grubundan fark, * $p<0,05$.

4.6.2. Vasküler Dokuda 20-HETE Düzeyi

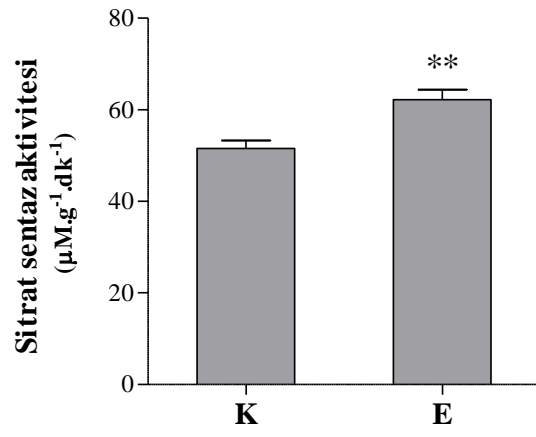
Torasik aorta, mezenter ve gastrokinemius direnç damarlarında 20-HETE miktarı değerlendirildi. Gastrokinemius direnç damarlarındaki 20-HETE miktarında E grubunda K grubuna kıyasla istatistiksel olarak azalma saptanırken ($p<0,05$) (Şekil 4.24.B), diğer damarlarda gruplar arası bir fark gözlenmedi (Şekil 4.24. A ve C).



Şekil 4.24. Torasik aorta (A), mezenter (B) ve gastrokinemius direnç damarlarında (C) 20-HETE miktarı. K grubundan fark, * $p<0,05$.

4.7. *Vastus lateralis* Kasında Sitrat Sentaz Aktivitesi

Hayvanlardan alınan kırmızı *vastus lateralis* kasında sitrat sentaz enzim aktivitesi sonuçları Şekil 4.25.'de değerlendirildi. E grubunun sitrat sentaz aktivitesi ($62,22 \pm 2,23 \mu\text{M.g yaş doku}^{-1}.\text{dk}^{-1}$) K grubuna ($51,56 \pm 1,76 \mu\text{M.g yaş doku}^{-1}.\text{dk}^{-1}$) kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek saptandı ($p<0,01$).



Şekil 4.25. *Vastus lateralis* kasında sitrat sentaz enzim aktivitesi. K grubundan fark ** p<0,01

5. TARTIŞMA

Yapılan düzenli fiziksel aktiviteler sonucunda vücudumuzda çeşitli dokularda oluşan birçok uyum vardır ve bu konu önemli ölçüde bilgi birikimine rağmen halen ayrıntılı olarak incelenmeye devam etmektedir. Egzersizin organizmada yarattığı bu süreçte kardiyovasküler sistem ön planda uyum gösteren yapıdır. Kardiyovasküler adaptasyonların en önemli göstergelerinden biri de, düzenli fiziksel aktiviteler sonrasında hem sağlıklı bireylerin hem de hipertansif hastaların dinlenim kan basınçlarında görülen düşüştür (Whelton ve ark., 2002; Cornelissen ve Smart, 2013; Huang ve ark., 2013; Semlitsch ve ark., 2013). Araştırmalar egzersize bağlı olarak damar endotelinde NO başta olmak üzere gevşetici maddelerin salgılarının artışı olması yanında, damar düz kasının vazokonstriktör uyarılara karşı yanıtının da azaldığını göstermiştir (Chen ve ark., 1994; Chen ve Chiang, 1996; Chen Hi ve ark., 1996; Green ve ark., 2004; Thijssen ve ark., 2008; Di Francescomarino ve ark., 2009; Thijssen ve ark., 2010). Düzenli fiziksel aktiviteler sonrasında istirahat koşullarında vasküler tonustaki değişikliklerde birçok mediatörün katkısı bilinirken, lokal dolaşımın düzenlenmesinde katkısı bulunan 20-HETE için herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız bu çalışmanın *in vivo* kısmında, düzenli yüzme egzersizi ile antrene hale getirilen sıçanlarda 20-HETE'nin kan basıncı üzerine etkisi ortaya kondu. Çalışmanın *ex vivo* olarak tasarlanan kısmında ise sıçanların iskelet kası ile mezenter yatağa ait direnç damarları ve torasik aortalarında 20-HETE'nin vasküler kasılma ve gevşeme yanıtlarındaki değişimleri gösterildi. Ayrıca bu damarlarda üretilen 20-HETE miktarı ve 20-HETE üretiminden sorumlu enzim CYP4A ekspresyonu saptanarak, görülen değişimlere açıklama getirilmeye çalışıldı.

20-HETE Üretimi İnhibisyonunun Kan Basıncına Etkisi

Düzenli egzersizin kan basıncını düşürücü etkisi uzun yıllardan beri bilinmesine rağmen, bu etkinin altında yatan mekanizmaların hepsi halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Kan basıncı, kalbin kanı sistemik dolaşıma pompalamasıyla arteriyel sisteme giren kanın arterler üzerinde oluşturduğu basınçtır. Ortalama arter basıncı kardiyak debi ve total periferik direnç (TPR) ile belirlendiğinden, düzenli egzersizden sonra arteriyel basınçtaki azalmalar, bu değişkenlerin birinde veya her ikisindeki azalmalar aracılı olmaktadır. Sağlıklı antrene bir bireyde dinlenim kalp debisinde düşüş, genellikle düzenli egzersiz periyodları sonrasında beklenen bir

durum değildir; bu nedenle azalmış TPR, egzersizden sonra dinlenim kan basıncındaki düşüşün temel mekanizması olarak görülmektedir. TPR'deki azalmalar öncelikle damar çapındaki değişikliklerle ilişkilidir. Damar çapındaki olası küçük değişiklikler vasküler direnç üzerinde oldukça önemli bir etkiye sahiptir (Korthuis, 2011). Egzersiz sonrasında vasküler direncin azalması nörohumoral, yapısal adaptasyonlar ve vazoaaktif uyaranlara karşı değişen vasküler yanıt vasıtasıyla gerçekleşir (Hellsten ve Nyberg, 2015; Green ve ark., 2017).

Kan basıncının uzun dönemli kontrolünde düzenli yapılan egzersiz çok büyük önem taşımaktadır. Düzenli fiziksel aktivite yapan ve bunu bir yaşam tarzı haline getiren kişilerde yüksek kan basıncı görülme olasılığı daha az olmaktadır. Sağlıklı bireylerde egzersizin kan basıncına olumlu katkıları yanında, egzersiz hipertansiyonu önlemede ve tedavi etmede oldukça başarılı yaklaşımlardan biridir. Egzersizin hem hipertansif hem de normotansif kişilerde kan basıncını düşürdüğü birçok çalışmada gösterilmiştir (Kelley ve ark., 2001; Whelton ve ark., 2002; Cornelissen ve Fagard, 2005; Cornelissen ve Smart, 2013; Huang ve ark., 2013; Semlitsch ve ark., 2013).

Egzersizin kan basıncını düşürücü etkisinde ileri sürülen mekanizmalardan biri de vasküler tonusa etki eden vazodilatör ve vazokonstriktör etkili endojen mediatörlerin arasındaki dengenin vazodilatasyon yönüne doğru eğilim göstermesidir. İletim tipi damarlarda Phe, NA, Ang II, PGF_{2α}, ve KCl; koroner damarlarda ET-1 ve U-46619; iskelet kası damarlarında ise Phe, NA, Ang II ve KCl kasılma yanıtlarında egzersiz sonucunda azalma, Ach ve akım aracılı gevşeme yanıtlarında ise artış saptanmıştır (Tablo 2.2).

20-HETE birçok damar dokusunda vazokonstriktör etkili olduğu bilinen, CYP4A enzimi tarafından üretilen endojen bir mediatördür. Çeşitli deneysel hipertansiyon modellerinde 20-HETE'nin hipertansiyon gelişimine yol açtığı bildirilmiştir (Dunn ve ark., 2008; Williams ve ark., 2010; Wu ve ark., 2011; Wu ve Schwartzman, 2011). Yapılan çalışmalar sonucu 20-HETE'nin renal (Ma ve ark., 1993; Imig ve ark., 1996; Sun ve ark., 1998; Alonso-Galicia ve ark., 1999), mezenterik (Wang ve ark., 2001), serebral (Harder ve ark., 1994; Harder ve ark., 1998; Gebremedhin ve ark., 2000) ve iskelet kası damarlarında (Harder ve ark., 1996; Kunert ve ark., 2001) etkili bir vazokonstriktör olduğu gösterilmiştir (Roman, 2002; Pat Kunert ve Drenjancevic, 2011). Düzenli egzersiz sonrası birçok mediyatörün vasküler tonusa

katkısı bilinirken lokal dolaşımın düzenlenmesinde yeri olan 20-HETE ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu bağlamda çalışmamızda egzersiz sonucu 20-HETE'nin vasküler tonusa katkısının azalabileceği göz önünde bulundurulduğunda, bu etkinin kan basıncına ne şekilde yansıtacağı araştırılmıştır. Çalışmamızın *in vivo* olarak tasarlanan kısmında E ve K grubu hayvanların kan basınçları bazal düzeyde ve 20-HETE biyosentezinin inhibisyonu sonrasında değerlendirildi. Grupların bazal kan basınçları kıyaslandığında fark gözlenmedi. Düzenli fiziksel aktivite sonucu sağlıklı bireylerde birçok olumlu vasküler adaptasyon oluşmakla birlikte, bu durum her zaman kan basıncı değerine yansımayabilir. Benzer olarak deney hayvanlarında da egzersiz kan basıncında ölçülebilir bir düşüşe neden olmamakla birlikte bir çok olumlu vasküler adaptasyon gözlenebilmektedir (Kuru ve ark., 2009; Jia ve ark., 2014; Ulker ve ark., 2017). Çalışmamızda her iki grubun bazal kan basınçları arasında fark olmamasına rağmen, 20-HETE üretimi inhibitörüne verdikleri yanıt göz önüne alındığında oldukça çarpıcı bir sonuca ulaşıldı. 5-15 ve 30. dakikalarda alınan kan basıncı kayıtlarında hem K hem de E gruplarında anlamlı azalma gözlemlendi. Fakat kan basıncındaki bu düşüş, K grubunda daha belirgindi. E grubunda gözlenen kan basıncındaki azalma K grubuna kıyasla anlamlı olarak daha düşüktü. Bu sonuç literatürde ilk defa düzenli fiziksel aktiviteler ile antrene hale gelen sıçanlarda, vazokonstriktör bir endojen mediatör olan 20-HETE'nin kan basıncının düzenlenmesine olan katkısının azaldığını göstermesi bakımından önemlidir.

Çalışmamızın ilk adımında düzenli egzersizlere bağlı 20-HETE'nin kan basıncının düzenlenmesindeki katkısının azalmasının ortaya konmasından sonra, bunun mekanizmasını araştırmak için damarların vasküler tonusa olan katkısının araştırılması hedeflenmiştir.

20-HETE Üretimi İnhibisyonunun Vasküler Yanıtlara Etkisi

Herhangi bir dokudaki kan akımını perfüzyon basıncı ile (arteriyel ve venöz basınçlar arası fark) o dokunun damar direnci belirler. Genellikle perfüzyon basıncı dar sınırlar içinde tutulduğundan, kan akımını önemli ölçüde belirleyen damar direncidir (Thomas ve Segal, 2004). Birçok doku gibi kas dokusunda da damar direnci büyük ölçüde çapı 10 ile 500 µm arasında değişen direnç damarlarının fonksiyonu olarak karşımıza çıkar (Green ve ark., 1996). Doku gereksinimine göre

direnç damarları, tonusunu değiştirerek kan akımını ayarlayabilir (metabolik teori) (Secomb, 2008). Diğer yönden arteriyel kan basıncının doku düzeyine inmeden düşürüldüğü en önemli basamak da direnç damarlarıdır. Direnç damarları hem doku kan akımına etkisi hem de sistemik kan basıncını düzenlemedeki etkisi yüzünden kritik bir öneme sahiptir (Bagher ve Segal, 2011). Direnç damarlarının hem doku kanlanmasına etkisi hem de sistemik kan basıncını düzenlemedeki etkisi yüzünden fonksiyonundaki değişiklikleri araştırmak birçok fizyolojik veya fizyopatolojik mekanizmaya ışık tutar. Damarlar üzerinde organ banyolarında yapılan çalışmalarda genellikle büyük iletim veya besleyici tip arterler incelenebilmektedir (Jespersen ve ark., 2015). Fakat bunların yanıtlarındaki değişikliklerin doku perfüzyonu veya kan basıncına ne düzeyde etki ettiği önemli bir eleştiri konusudur. Direnç damarı denilebilecek düzeydeki küçük arter (100 - 500 μm) yanıtlarının incelenmesi miyograflarda mümkün olmaktadır (Falloon ve ark., 1995; Spiers ve Padmanabhan, 2005; del Campo ve Ferrer, 2015). Miyografta çeşitli vazoaktif maddelere karşı damarın verdiği kasılma ve gevşeme yanıtları izometrik kuvvet transdüserleriyle kaydedilmektedir (del Campo ve Ferrer, 2015). Bu çalışmada incelemek için üç farklı damar segmenti seçtik. İletim tipi büyük bir arter olan ve yaklaşık çapı 2-2,5 mm arasındaki torasik aort halkalarının yanıtları klasik organ banyosu kullanılarak elde edildi. Çapı 200-240 μm arasında değişen gastrokinezius çizgili kas direnç damarları ve çapları 200-220 μm arasında değişen mezenter yatak direnç damarları yanıtları ise telli miyograf kullanılarak kaydedildi. Gastrokinezius çizgili kas direnç arteri, fiziksel aktiviteye bağlı adaptasyon gösteren damar yatağı olduğu için çalışmamızda kullanıldı. Egzersiz sırasında inaktif olan dokuların damar yanıtlarındaki değişikliklerin incelenebilmesi için ise mezenter yatak direnç damarları kullanıldı. Bu iki direnç damarına ek olarak iletim tipi olan torasik aorta çalışmamıza dahil edildi.

Düzenli yapılan fiziksel aktivitelere bağlı kardiyovasküler adaptasyonların en belirgin olanları vasküler tonus düzenlenmesinde gerçekleşirken, direnç damarları bu konuda öncelikli olarak yer almaktadır (Sun ve ark., 1994; Sun ve ark., 1998; Laughlin ve ark., 2004; Jasperse ve Laughlin, 2006; Donato ve ark., 2007; Behnke ve ark., 2012; Roque ve ark., 2013; Muller-Delp ve ark., 2017). Egzersiz yaparken ön planda çalışan iskelet kasının direnç damarlarındaki değişiklikler tüm vasküler sistemi etkileyebilecek düzeye kadar gelebilmektedir. Çalışmamızda bu olası

değişikliği gastrokinemius direnç damarlarını inceleyerek ortaya koymayı hedefledik. 20-HETE üretimi inhibisyonu sonucu kan basıncının egzersiz grubunda anlamlı düzeyde baskılanması, 20-HETE'nin iskelet kası direnç damarı tonusundaki katkısının da incelenmesini gerektiriyordu. Bu nedenle damarların kümülatif olarak artan dozlarda HET0016'ya verdikleri yanıt değerlendirildi. HET0016 ile CYP4A enziminin inhibisyonu sonucu 20-HETE üretiminin engellenmesiyle, gastrokinemius direnç arterlerinde egzersiz grubunda kontrol grubuna göre 20-HETE'nin vazokonstriksiyona katkısının daha az olduğu gözlemlendi. Beden ağırlığının yaklaşık %40 ile en büyük dokuyu oluşturan çizgili kasların direnç damarlarında 20-HETE'nin vazokonstriktör etkisinin egzersize bağlı olarak azalması, kan basıncı sonuçları ile paralellik gösteriyordu. Diğer yönden bu yanıt egzersizde inaktif doku örneği olarak kullanılan mezenter damarlarda yoktu. HET0016 doz yanıt eğrisi, hem kontrol hem de egzersiz grubunda birbirinden farklı değildi. Mezenter damarlara benzer olarak bir iletim tipi arteri olan torasik aortada da 20-HETE üretimi inhibisyonu kontrol ve egzersiz grubunda farklı saptanmadı.

20-HETE damarlarda vazokonstriksiyona temel olarak iki şekilde katkıda bulunmaktadır. İlki 20-HETE'nin ön planda Ca^{+2} ile aktive olan iletkenliği büyük K^{+} kanallarının inhibisyonuna neden olarak oluşturduğu, doğrudan görülen vazokonstriktif etkidir. İkincisi ise bazı vazokonstriktör maddelere bağlı olarak, 20-HETE üretiminin artarak bu maddelerin etkinliğini arttırmasıdır (Fan ve ark., 2016). Araştırmamızda 20-HETE'nin özellikle gastrokinemius damarlarındaki vazokonstriktif etkisinin azaldığını ortaya koyduktan sonra; NA, Phe, Vaz, Ang II ve Tbx gibi vazokonstriktif etkisi iyi bilinen maddelerin yanıtlarına 20-HETE'nin katkısı her iki grupta incelendi.

Gastrokinemius direnç damarlarında her iki grubun vazokonstriktif ajanlara verdiği bazal kasılma yanıtları incelendiğinde, egzersiz grubunda NA, Phe, Vaz, Ang II ve Tbx kasılma yanıtları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde baskılanmış olarak saptandı. Düzenli fiziksel aktivitelere bağlı olarak çeşitli damar yataklarında vazokonstriktif maddelere olası yanıt azalması oldukça sık gözlenen bir durumdur. Tablo 2.2 de ayrıntılı olarak incelendiği gibi, literatürde egzersiz sonucu vazokonstriktif mediatörlere karşı farklı damar yataklarının yanıtları çeşitlilik gösterse de, egzersizde ön planda çalışan iskelet kası damarlarında özellikle Phe,

NA, Ang II, ET-1 ve KCl gibi maddelere karşı düzenli fiziksel aktiviteler sonucu kasılma yanıtlarında baskılanma göze çarpmaktadır (Laughlin ve ark., 2004; Donato ve ark., 2005; Brothers ve ark., 2006; Donato ve ark., 2007; Thijssen ve ark., 2007). Kontrol grubunda gastrokinemius arterlerinde incelenen tüm vazokonstriktörlerin (NA, Phe, Vaz, Ang II, Tbx) kasılma yanıtlarında 20-HETE üretimi inhibisyonu sonucu vazokonstriktör etkinin azaldığı gözlemlendi. Bu sonuçlar çeşitli vazokonstriktörlerin kasılma yanıtının oluşumunda 20-HETE'nin katkısını gösteren ve literatürde de ortaya konulan bir durumdur (Oyekan ve ark., 1997; Chu ve ark., 2000; Zhang ve ark., 2001; Cambj-Sapunar ve ark., 2003; Zhang ve ark., 2004) Ancak çalışmamızın orijinal bir bulgusu olarak, Phe ve Vaz kasılma yanıtlarının oluşumunda egzersiz grubunda 20-HETE'nin bir katkısının olmadığı gözlemlendi. Fakat NA, Ang II, Tbx'in kasılma yanıtlarına 20-HETE'nin katkısı egzersiz grubunda devam ediyordu.

Egzersiz sırasında inaktif dokuya örnek olarak seçilen splanik alan direnç damarları olan mezenter direnç arteri yanıtlarında, kontrol ve egzersiz grupları arasında belirgin bir yanıt farkı gözlenmedi. Mezenter direnç damarlarında NA, Phe ve Tbx kasılma yanıtlarında hem kontrol hem de egzersiz grubunda 20-HETE'nin katkısı yokken, Vaz ve Ang II kasılma yanıtlarında her iki grupta 20-HETE'nin kasılma yanıtlarına benzer düzeyde katkısı saptandı. İletim tipi arter olarak incelediğimiz torasik aortada Phe ve Tbx kasılma yanıtlarına her iki grupta 20-HETE'nin katkısı yokken, Vaz ve Ang II kasılma yanıtlarında her iki grupta benzer şekilde 20-HETE'nin katkısı olduğu gözlemlendi. Ancak torasik aortada NA kasılma yanıtı diğer vazokonstriktör maddelere göre ayrıcalık gösterdi. 20-HETE'nin kontrol grubunda NA kasılma yanıtlarına katkısı olduğu halde, yüzme egzersizi ile antrene hale getirilen sıçanlarda bu katkının ortadan kalktığı gözlemlendi. Torasik aortadaki NA sonucuna rağmen 20-HETE'nin çeşitli vazokonstriktif ajanların kasılma yanıtlarına katkısı bakımında hem torasik aortada hem de mezenter damarlarda düzenli yapılan fiziksel aktivitenin bir fark yaratmadığını söyleyebiliriz. Bu iki damar yanıtları incelendiğinde özellikle Ang II ve Vaz kasılma yanıtlarına 20-HETE katkısı bulunmakta idi. Mezenterik arterlerde 20-HETE üretimi inhibisyonu sonucu Vaz ve Ang II kasılma yanıtının azaldığı dikkat çekmektedir (Chu ve ark., 2000; Zhang ve ark., 2001) Çalışmamızda incelenen her üç damar segmentinde Ach gevşeme yanıtlarına olan etkisi de araştırıldı. Her üç damar segmentinde gruplar arasında bir fark bulunmadı.

Düzenli fiziksel aktiviteye bağlı antrene hale gelen hayvanların kan basınçlarının regülasyonuna vazokonstriktif bir mediatör olan 20-HETE'nin katkısının azalmasının, büyük ölçüde iskelet kası direnç damarlarındaki 20-HETE'nin vazokonstriktif etkisinin azalmasına bağlı olduğu araştırmamızın ikinci aşamasında ortaya konmuş oldu. Bu aşamadan sonra egzersizde 20-HETE vazokonstriksiyon yanıtı azlığının nedenini ortaya koyabilmek için, damarların 20-HETE düzeyi ve 20-HETE üretiminden sorumlu olan CYP4A enzimi düzeyi açısından değerlendirilmesi yapılmıştır.

20-HETE Üretimindeki Değişiklikler

20-HETE düzeyi ölçümü özellikle hipertansiyon çalışmalarında mekanizmaya ışık tutması açısından yol gösterici olabilmektedir (Singh ve ark., 2007; Dunn ve ark., 2008). Biz de çalışmamızda incelediğimiz damarların bazal 20-HETE düzeylerini belirleyerek, 20-HETE kasılma yanıtlarındaki azalmayı açıklamaya çalıştık. Torasik aort ve mezenter direnç damarlarında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı seviyede 20-HETE düzeyi farkı saptanmadı. Ancak gastrokinemius direnç arterlerinde 20-HETE düzeyi egzersiz grubunda anlamlı olarak daha düşük saptandı. Bu durum gastrokinemius direnç damarlarında 20-HETE'nin doğrudan kasıcı etkisindeki ve çeşitli vazokonstriktif ajanların kasıcı etkisine yaptığı katkının azalmasını destekler yönde idi.

Organizmada 20-HETE düzeyi, sentezindeki değişiklikler veya metabolizmasındaki değişiklikler üzerinden olacaktır. Araştırmamızın son aşamasında 20-HETE üretiminden sorumlu enzim olan CYP4A'nın protein düzeyi damar segmentlerinde belirlendi. 20-HETE düzeyinin azaldığı damar segmenti olan gastrokinemius direnç damarlarında CYP4A enzimi protein düzeyi egzersiz grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı. Araştırmamızda tam olarak açıklayamadığımız unsurlardan bir tanesi CYP4A enzimi protein düzeyi egzersiz grubunda mezenter direnç arterlerinde farklı olmadığı halde, torasik aortada egzersiz grubuna göre daha düşüktü. Torasik aortada 20-HETE'nin vazokonstriktif etkinliğinde egzersiz grubunda belirgin bir değişim saptanmasa da (NA kasılma yanıtında azalma hariç) CYP4A enzimi protein düzeyi azalması birbirini destekler durumda değildi. Dahası CYP4A enzim düzeyindeki azalış 20-HETE bazal

düzeyinin azalmasına yansımamıştı, doğal olarak torasik aort 20-HETE yanıtlarında bir azalma gözlenmedi.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Vasküler tonusun düzenlenmesine katkıda bulunan endojen mediatörlerden biri olan 20-HETE'nin düzenli fiziksel aktivitelere bağlı olarak vazokonstriktif katkısındaki azalma ilk defa bu çalışmada gösterilmiştir. 20-HETE üretimi inhibisyonu yüzme egzersizi sonucu hem kan basıncında hem de gastrokinemius direnç damarları kasılma yanıtında azalmaya neden olmuştur. 20-HETE'nin vazokonstriktif etkinliğinin fiziksel aktiviteye bağlı olarak azalmasının, 20-HETE üretiminden sorumlu olan enzim CYP4A protein miktarının azalmasına bağlı olduğu ortaya konulmuştur. Çalışmamızda fiziksel aktivitenin CYP4A enzim düzeyini nasıl düşürdüğü ile ilgili bir sonuç bulunmadığından bu konunun araştırılmasının gerektiğini düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

Adams V, Linke A, Krankel N, Erbs S, Gielen S, Mobius-Winkler S, Gummert JF, Mohr FW, Schuler G, Hambrecht R. Impact of regular physical activity on the NAD(P)H oxidase and angiotensin receptor system in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2005;111: 555-562.

Alonso-Galicia M, Drummond HA, Reddy KK, Falck JR, Roman RJ. Inhibition of 20-HETE production contributes to the vascular responses to nitric oxide. *Hypertension*. 1997;29: 320-325.

Alonso-Galicia M, Falck JR, Reddy KM, Roman RJ. 20-HETE agonists and antagonists in the renal circulation. *The American journal of physiology*. 1999;277: F790-796.

Alonso-Galicia M, Hudetz AG, Shen H, Harder DR, Roman RJ. Contribution of 20-HETE to vasodilator actions of nitric oxide in the cerebral microcirculation. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1999;30: 2727-2734; discussion 2734.

Amaral SL, Maier KG, Schippers DN, Roman RJ, Greene AS. CYP4A metabolites of arachidonic acid and VEGF are mediators of skeletal muscle angiogenesis. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2003;284: H1528-1535.

Antoun J, Goulitquer S, Amet Y, Dreano Y, Salaun JP, Corcos L, Plee-Gautier E. CYP4F3B is induced by PGA1 in human liver cells: a regulation of the 20-HETE synthesis. *Journal of lipid research*. 2008;49: 2135-2141.

Anwar-mohamed A, Zordoky BN, Aboutabl ME, El-Kadi AO. Alteration of cardiac cytochrome P450-mediated arachidonic acid metabolism in response to lipopolysaccharide-induced acute systemic inflammation. *Pharmacological research*. 2010;61: 410-418.

Bagher P, Segal SS. Regulation of blood flow in the microcirculation: role of conducted vasodilation. *Acta physiologica*. 2011;202: 271-284.

Bank AJ, Shammass RA, Mullen K, Chuang PP. Effects of short-term forearm exercise training on resistance vessel endothelial function in normal subjects and patients with heart failure. *Journal of cardiac failure*. 1998;4: 193-201.

Basora N, Boulay G, Bilodeau L, Rousseau E, Payet MD. 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) activates mouse TRPC6 channels expressed in HEK293 cells. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278: 31709-31716.

Bayliss WM. On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *The Journal of physiology*. 1902;28: 220-231.

Behnke BJ, Ramsey MW, Stabley JN, Dominguez JM, 2nd, Davis RT, 3rd, McCullough DJ, Muller-Delp JM, Delp MD. Effects of aging and exercise training on skeletal muscle blood flow and resistance artery morphology. *Journal of applied physiology*. 2012;113: 1699-1708.

Bergfeld GR, Forrester T. Release of ATP from human erythrocytes in response to a brief period of hypoxia and hypercapnia. *Cardiovascular research*. 1992;26: 40-47.

Birks EK, Bousamra M, Presberg K, Marsh JA, Effros RM, Jacobs ER. Human pulmonary arteries dilate to 20-HETE, an endogenous eicosanoid of lung tissue. *The American journal of physiology*. 1997;272: L823-829.

Bolme P, Fuxe K. Adrenergic and cholinergic nerve terminals in skeletal muscle vessels. *Acta physiologica Scandinavica*. 1970;78: 52-59.

Boo YC, Sorescu G, Boyd N, Shiojima I, Walsh K, Du J, Jo H. Shear stress stimulates phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase at Ser1179 by Akt-independent mechanisms: role of protein kinase A. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277: 3388-3396.

Botros FT, Laniado-Schwartzman M, Abraham NG. Regulation of cyclooxygenase- and cytochrome p450-derived eicosanoids by heme oxygenase in the rat kidney. *Hypertension*. 2002;39: 639-644.

Boushel R. Metabolic control of muscle blood flow during exercise in humans. Canadian journal of applied physiology = Revue canadienne de physiologie appliquee. 2003;28: 754-773.

Bradley SJ, Kingwell BA, McConell GK. Nitric oxide synthase inhibition reduces leg glucose uptake but not blood flow during dynamic exercise in humans. Diabetes. 1999;48: 1815-1821.

Brayden JE. Membrane hyperpolarization is a mechanism of endothelium-dependent cerebral vasodilation. The American journal of physiology. 1990;259: H668-673.

Brayden JE, Earley S, Nelson MT, Reading S. Transient receptor potential (TRP) channels, vascular tone and autoregulation of cerebral blood flow. Clinical and experimental pharmacology & physiology. 2008;35: 1116-1120.

Brothers RM, Haslund ML, Wray DW, Raven PB, Sander M. Exercise-induced inhibition of angiotensin II vasoconstriction in human thigh muscle. The Journal of physiology. 2006;577: 727-737.

Buckwalter JB, Clifford PS. The paradox of sympathetic vasoconstriction in exercising skeletal muscle. Exercise and sport sciences reviews. 2001;29: 159-163.

Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. Circulation research. 2000;87: 840-844.

Cambj-Sapunar L, Yu M, Harder DR, Roman RJ. Contribution of 5-hydroxytryptamine_{1B} receptors and 20-hydroxyeicosatetraenoic acid to fall in cerebral blood flow after subarachnoid hemorrhage. Stroke; a journal of cerebral circulation. 2003;34: 1269-1275.

Capdevila JH, Falck JR. Biochemical and molecular properties of the cytochrome P450 arachidonic acid monooxygenases. Prostaglandins & other lipid mediators. 2002;68-69: 325-344.

Carmeliet P, Jain RK. Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases. Nature reviews Drug discovery. 2011;10: 417-427.

Carroll MA, Balazy M, Huang DD, Rybalova S, Falck JR, McGiff JC. Cytochrome P450-derived renal HETEs: storage and release. *Kidney international*. 1997;51: 1696-1702.

Carroll MA, Balazy M, Margiotta P, Huang DD, Falck JR, McGiff JC. Cytochrome P-450-dependent HETEs: profile of biological activity and stimulation by vasoactive peptides. *The American journal of physiology*. 1996;271: R863-869.

Carroll MA, Kemp R, Cheng MK, McGiff JC. Regulation of preglomerular microvascular 20-hydroxyeicosatetraenoic acid levels by salt depletion. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2001;7: 567-572.

Chabova VC, Kramer HJ, Vaneckova I, Vernerova Z, Eis V, Tesar V, Skaroupkova P, Thumova M, Schejbalova S, Huskova Z *et al*. Effects of chronic cytochrome P-450 inhibition on the course of hypertension and end-organ damage in Ren-2 transgenic rats. *Vascular pharmacology*. 2007;47: 145-159.

Chavoshan B, Sander M, Sybert TE, Hansen J, Victor RG, Thomas GD. Nitric oxide-dependent modulation of sympathetic neural control of oxygenation in exercising human skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2002;540: 377-386.

Chen HI, Chiang IP. Chronic exercise decreases adrenergic agonist-induced vasoconstriction in spontaneously hypertensive rats. *The American journal of physiology*. 1996;271: H977-983.

Chen HI, Chiang IP, Jen CJ. Exercise Training Increases Acetylcholine-Stimulated Endothelium-Derived Nitric Oxide Release in Spontaneously Hypertensive Rats. *Journal of biomedical science*. 1996;3: 454-460.

Chen HI, Li HT, Chen CC. Physical conditioning decreases norepinephrine-induced vasoconstriction in rabbits. Possible roles of norepinephrine-evoked endothelium-derived relaxing factor. *Circulation*. 1994;90: 970-975.

Chen L, Ackerman R, Guo AM. 20-HETE in neovascularization. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2012;98: 63-68.

Chen L, Ackerman R, Saleh M, Gotlinger KH, Kessler M, Mendelowitz LG, Falck JR, Arbab AS, Scicli AG, Schwartzman ML *et al.* 20-HETE regulates the angiogenic functions of human endothelial progenitor cells and contributes to angiogenesis in vivo. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2014;348: 442-451.

Chen P, Guo M, Wygle D, Edwards PA, Falck JR, Roman RJ, Scicli AG. Inhibitors of cytochrome P450 4A suppress angiogenic responses. *The American journal of pathology*. 2005;166: 615-624.

Chen SJ, Wu CC, Yen MH. Exercise training activates large-conductance calcium-activated K(+) channels and enhances nitric oxide production in rat mesenteric artery and thoracic aorta. *Journal of biomedical science*. 2001;8: 248-255.

Chen Y, Medhora M, Falck JR, Pritchard KA, Jr., Jacobs ER. Mechanisms of activation of eNOS by 20-HETE and VEGF in bovine pulmonary artery endothelial cells. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology*. 2006;291: L378-385.

Cheng J, Edin ML, Hoopes SL, Li H, Bradbury JA, Graves JP, DeGraff LM, Lih FB, Garcia V, Shaik JS *et al.* Vascular characterization of mice with endothelial expression of cytochrome P450 4F2. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2014;28: 2915-2931.

Cheng J, Ou JS, Singh H, Falck JR, Narsimhaswamy D, Pritchard KA, Jr., Schwartzman ML. 20-hydroxyeicosatetraenoic acid causes endothelial dysfunction via eNOS uncoupling. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2008;294: H1018-1026.

Cheng J, Wu CC, Gotlinger KH, Zhang F, Falck JR, Narsimhaswamy D, Schwartzman ML. 20-hydroxy-5,8,11,14-eicosatetraenoic acid mediates endothelial dysfunction via IkappaB kinase-dependent endothelial nitric-oxide synthase uncoupling. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2010;332: 57-65.

Chies AB, de Oliveira AM, Pereira FC, de Andrade CR, Correa FM. Phenylephrine-induced vasoconstriction of the rat superior mesenteric artery is decreased after

repeated swimming. Journal of smooth muscle research = Nihon Heikatsukin Gakkai kikanishi. 2004;40: 249-258.

Christmas P, Jones JP, Patten CJ, Rock DA, Zheng Y, Cheng SM, Weber BM, Carlesso N, Scadden DT, Rettie AE *et al.* Alternative splicing determines the function of CYP4F3 by switching substrate specificity. The Journal of biological chemistry. 2001;276: 38166-38172.

Chu ZM, Croft KD, Kingsbury DA, Falck JR, Reddy KM, Beilin LJ. Cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid may be important mediators in angiotensin II-induced vasoconstriction in the rat mesentery in vivo. Clinical science. 2000;98: 277-282.

Claar D, Hartert TV, Peebles RS, Jr. The role of prostaglandins in allergic lung inflammation and asthma. Expert review of respiratory medicine. 2015;9: 55-72.

Clifford PS, Hellsten Y. Vasodilatory mechanisms in contracting skeletal muscle. Journal of applied physiology. 2004;97: 393-403.

Cornelissen VA, Fagard RH. Effects of endurance training on blood pressure, blood pressure-regulating mechanisms, and cardiovascular risk factors. Hypertension. 2005;46: 667-675.

Cornelissen VA, Smart NA. Exercise training for blood pressure: a systematic review and meta-analysis. Journal of the American Heart Association. 2013;2: e004473.

Crecelesius AR, Kirby BS, Richards JC, Garcia LJ, Voyles WF, Larson DG, Luckasen GJ, Dinunno FA. Mechanisms of ATP-mediated vasodilation in humans: modest role for nitric oxide and vasodilating prostaglandins. American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 2011;301: H1302-1310.

Croft KD, McGiff JC, Sanchez-Mendoza A, Carroll MA. Angiotensin II releases 20-HETE from rat renal microvessels. American journal of physiology Renal physiology. 2000;279: F544-551.

Cuez T, Korkmaz B, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Falck J, Malik KU, Tunctan B. A synthetic analogue of 20-HETE, 5,14-HEDGE, reverses endotoxin-induced

hypotension via increased 20-HETE levels associated with decreased iNOS protein expression and vasodilator prostanoid production in rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2010;106: 378-388.

Davis MJ, Hill, M.A., Kuo, L. *Local Regulation of Microvascular Perfusion, Microcirculation*. 2008. Academic Press, pp. 161-285.

del Campo L, Ferrer M. Wire Myography to Study Vascular Tone and Vascular Structure of Isolated Mouse Arteries. *Methods in molecular biology*. 2015;1339: 255-276.

Delp MD, Laughlin MH. Time course of enhanced endothelium-mediated dilation in aorta of trained rats. *Medicine and science in sports and exercise*. 1997;29: 1454-1461.

Delp MD, Laughlin MH. Regulation of skeletal muscle perfusion during exercise. *Acta physiologica Scandinavica*. 1998;162: 411-419.

Delp MD, McAllister RM, Laughlin MH. Exercise training alters endothelium-dependent vasoreactivity of rat abdominal aorta. *Journal of applied physiology*. 1993;75: 1354-1363.

Delp MD, O'Leary DS. Integrative control of the skeletal muscle microcirculation in the maintenance of arterial pressure during exercise. *Journal of applied physiology*. 2004;97: 1112-1118.

Dhanasekaran A, Bodiga S, Gruenloh S, Gao Y, Dunn L, Falck JR, Buonaccorsi JN, Medhora M, Jacobs ER. 20-HETE increases survival and decreases apoptosis in pulmonary arteries and pulmonary artery endothelial cells. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2009;296: H777-786.

Di Francescomarino S, Sciartilli A, Di Valerio V, Di Baldassarre A, Gallina S. The effect of physical exercise on endothelial function. *Sports medicine*. 2009;39: 797-812.

Diaz KM, Shimbo D. Physical activity and the prevention of hypertension. *Current hypertension reports*. 2013;15: 659-668.

Dietrich HH, Ellsworth ML, Sprague RS, Dacey RG, Jr. Red blood cell regulation of microvascular tone through adenosine triphosphate. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2000;278: H1294-1298.

Dinenno FA, Joyner MJ. Blunted sympathetic vasoconstriction in contracting skeletal muscle of healthy humans: is nitric oxide obligatory? *The Journal of physiology*. 2003;553: 281-292.

Dinenno FA, Joyner MJ. Combined NO and PG inhibition augments alpha-adrenergic vasoconstriction in contracting human skeletal muscle. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2004;287: H2576-2584.

Ding Y, Wu CC, Garcia V, Dimitrova I, Weidenhammer A, Joseph G, Zhang F, Manthathi VL, Falck JR, Capdevila JH *et al*. 20-HETE induces remodeling of renal resistance arteries independent of blood pressure elevation in hypertension. *American journal of physiology Renal physiology*. 2013;305: F753-763.

Dipla K, Nassis GP, Vrabas IS. Blood Pressure Control at Rest and during Exercise in Obese Children and Adults. *Journal of obesity*. 2012;2012: 147385.

Donato AJ, Lesniewski LA, Delp MD. The effects of aging and exercise training on endothelin-1 vasoconstrictor responses in rat skeletal muscle arterioles. *Cardiovascular research*. 2005;66: 393-401.

Donato AJ, Lesniewski LA, Delp MD. Ageing and exercise training alter adrenergic vasomotor responses of rat skeletal muscle arterioles. *The Journal of physiology*. 2007;579: 115-125.

Duling BR, Berne RM. Longitudinal gradients in periarteriolar oxygen tension. A possible mechanism for the participation of oxygen in local regulation of blood flow. *Circulation research*. 1970;27: 669-678.

Dunn KM, Renic M, Flasch AK, Harder DR, Falck J, Roman RJ. Elevated production of 20-HETE in the cerebral vasculature contributes to severity of ischemic stroke and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2008;295: H2455-2465.

Dyke CK, Dietz NM, Lennon RL, Warner DO, Joyner MJ. Forearm blood flow responses to handgripping after local neuromuscular blockade. *Journal of applied physiology*. 1998;84: 754-758.

Ellsworth ML, Ellis CG, Goldman D, Stephenson AH, Dietrich HH, Sprague RS. Erythrocytes: oxygen sensors and modulators of vascular tone. *Physiology*. 2009;24: 107-116.

Ellsworth ML, Forrester T, Ellis CG, Dietrich HH. The erythrocyte as a regulator of vascular tone. *The American journal of physiology*. 1995;269: H2155-2161.

Elshenawy OH, Anwar-Mohamed A, El-Kadi AO. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid is a potential therapeutic target in cardiovascular diseases. *Current drug metabolism*. 2013;14: 706-719.

Escalante B, Erlij D, Falck JR, McGiff JC. Effect of cytochrome P450 arachidonate metabolites on ion transport in rabbit kidney loop of Henle. *Science*. 1991;251: 799-802.

Escalante B, Sessa WC, Falck JR, Yadagiri P, Schwartzman ML. Vasoactivity of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid is dependent on metabolism by cyclooxygenase. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1989;248: 229-232.

Falloon BJ, Stephens N, Tulip JR, Heagerty AM. Comparison of small artery sensitivity and morphology in pressurized and wire-mounted preparations. *The American journal of physiology*. 1995;268: H670-678.

Fan F, Ge Y, Lv W, Elliott MR, Muroya Y, Hirata T, Booz GW, Roman RJ. Molecular mechanisms and cell signaling of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid in vascular pathophysiology. *Frontiers in bioscience*. 2016;21: 1427-1463.

Forrester T. An estimate of adenosine triphosphate release into the venous effluent from exercising human forearm muscle. *The Journal of physiology*. 1972;224: 611-628.

Forrester T, Lind AR. Identification of adenosine triphosphate in human plasma and the concentration in the venous effluent of forearm muscles before, during and after sustained contractions. *The Journal of physiology*. 1969;204: 347-364.

Frandsenn U, Bangsbo J, Sander M, Hoffner L, Betak A, Saltin B, Hellsten Y. Exercise-induced hyperaemia and leg oxygen uptake are not altered during effective inhibition of nitric oxide synthase with N(G)-nitro-L-arginine methyl ester in humans. *The Journal of physiology*. 2001;531: 257-264.

Fredricks KT, Liu Y, Lombard JH. Response of extraparenchymal resistance arteries of rat skeletal muscle to reduced PO₂. *The American journal of physiology*. 1994;267: H706-715.

Frisbee JC, Falck JR, Lombard JH. Contribution of cytochrome P-450 omega-hydroxylase to altered arteriolar reactivity with high-salt diet and hypertension. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2000;278: H1517-1526.

Frisbee JC, Krishna UM, Falck JR, Lombard JH. Role of prostanoids and 20-HETE in mediating oxygen-induced constriction of skeletal muscle resistance arteries. *Microvascular research*. 2001;62: 271-283.

Frisbee JC, Lombard JH. Parenchymal tissue cytochrome P450 4A enzymes contribute to oxygen-induced alterations in skeletal muscle arteriolar tone. *Microvascular research*. 2002;63: 340-343.

Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 1989;3: 2007-2018.

Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288: 373-376.

Garcia V, Schwartzman ML. Recent developments on the vascular effects of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2017;26: 74-82.

Gebremedhin D, Lange AR, Lowry TF, Taheri MR, Birks EK, Hudetz AG, Narayanan J, Falck JR, Okamoto H, Roman RJ *et al.* Production of 20-HETE and its role in autoregulation of cerebral blood flow. *Circulation research*. 2000;87: 60-65.

Gebremedhin D, Lange AR, Narayanan J, Aebly MR, Jacobs ER, Harder DR. Cat cerebral arterial smooth muscle cells express cytochrome P450 4A2 enzyme and produce the vasoconstrictor 20-HETE which enhances L-type Ca²⁺ current. *The Journal of physiology*. 1998;507 (Pt 3): 771-781.

Gerhardt H, Golding M, Fruttiger M, Ruhrberg C, Lundkvist A, Abramsson A, Jeltsch M, Mitchell C, Alitalo K, Shima D *et al.* VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia. *The Journal of cell biology*. 2003;161: 1163-1177.

Ghosh P, Mora Solis FR, Dominguez JM, 2nd, Spier SA, Donato AJ, Delp MD, Muller-Delp JM. Exercise training reverses aging-induced impairment of myogenic constriction in skeletal muscle arterioles. *Journal of applied physiology*. 2015;118: 904-911.

Gielen S, Schuler G, Adams V. Cardiovascular effects of exercise training: molecular mechanisms. *Circulation*. 2010;122: 1221-1238.

Golbidi S, Laher I. Exercise and the cardiovascular system. *Cardiology research and practice*. 2012;2012: 210852.

Gonzalez-Alonso J. ATP as a mediator of erythrocyte-dependent regulation of skeletal muscle blood flow and oxygen delivery in humans. *The Journal of physiology*. 2012;590: 5001-5013.

Gonzalez-Alonso J, Olsen DB, Saltin B. Erythrocyte and the regulation of human skeletal muscle blood flow and oxygen delivery: role of circulating ATP. *Circulation research*. 2002;91: 1046-1055.

Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, Kawamura M, Chayama K, Yoshizumi M, Nara I. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation*. 2003;108: 530-535.

Grange RW, Isotani E, Lau KS, Kamm KE, Huang PL, Stull JT. Nitric oxide contributes to vascular smooth muscle relaxation in contracting fast-twitch muscles. *Physiological genomics*. 2001;5: 35-44.

Green DJ, Hopman MT, Padilla J, Laughlin MH, Thijssen DH. Vascular Adaptation to Exercise in Humans: Role of Hemodynamic Stimuli. *Physiological reviews*. 2017;97: 495-528.

Green DJ, Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *The Journal of physiology*. 2004;561: 1-25.

Green DJ, O'Driscoll G, Blanksby BA, Taylor RR. Control of skeletal muscle blood flow during dynamic exercise: contribution of endothelium-derived nitric oxide. *Sports medicine*. 1996;21: 119-146.

Guidry G, Landis SC. Absence of cholinergic sympathetic innervation from limb muscle vasculature in rats and mice. *Autonomic neuroscience : basic & clinical*. 2000;82: 97-108.

Gunduz F, Kocer G, Ulker S, Meiselman HJ, Baskurt OK, Senturk UK. Exercise training enhances flow-mediated dilation in spontaneously hypertensive rats. *Physiological research*. 2011;60: 589-597.

Guo AM, Arbab AS, Falck JR, Chen P, Edwards PA, Roman RJ, Scicli AG. Activation of vascular endothelial growth factor through reactive oxygen species mediates 20-hydroxyecosatetraenoic acid-induced endothelial cell proliferation. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2007;321: 18-27.

Guo AM, Janic B, Sheng J, Falck JR, Roman RJ, Edwards PA, Arbab AS, Scicli AG. The cytochrome P450 4A/F-20-hydroxyecosatetraenoic acid system: a regulator of endothelial precursor cells derived from human umbilical cord blood. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2011;338: 421-429.

Guo AM, Scicli G, Sheng J, Falck JC, Edwards PA, Scicli AG. 20-HETE can act as a nonhypoxic regulator of HIF-1 α in human microvascular endothelial cells.

American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 2009;297: H602-613.

Hambrecht R, Adams V, Erbs S, Linke A, Krankel N, Shu Y, Baither Y, Gielen S, Thiele H, Gummert JF *et al.* Regular physical activity improves endothelial function in patients with coronary artery disease by increasing phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2003;107: 3152-3158.

Hansen AH, Nyberg M, Bangsbo J, Saltin B, Hellsten Y. Exercise training alters the balance between vasoactive compounds in skeletal muscle of individuals with essential hypertension. *Hypertension*. 2011;58: 943-949.

Harder DR, Alkayed NJ, Lange AR, Gebremedhin D, Roman RJ. Functional hyperemia in the brain: hypothesis for astrocyte-derived vasodilator metabolites. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1998;29: 229-234.

Harder DR, Gebremedhin D, Narayanan J, Jefcoat C, Falck JR, Campbell WB, Roman R. Formation and action of a P-450 4A metabolite of arachidonic acid in cat cerebral microvessels. *The American journal of physiology*. 1994;266: H2098-2107.

Harder DR, Lange AR, Gebremedhin D, Birks EK, Roman RJ. Cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid as intracellular signaling molecules in vascular tissue. *Journal of vascular research*. 1997;34: 237-243.

Harder DR, Narayanan J, Birks EK, Liard JF, Imig JD, Lombard JH, Lange AR, Roman RJ. Identification of a putative microvascular oxygen sensor. *Circulation research*. 1996;79: 54-61.

Harder DR, Narayanan J, Gebremedhin D. Pressure-induced myogenic tone and role of 20-HETE in mediating autoregulation of cerebral blood flow. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2011;300: H1557-1565.

Harizi H, Corcuff JB, Gualde N. Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. *Trends in molecular medicine*. 2008;14: 461-469.

Harrison DG. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *The Journal of clinical investigation*. 1997;100: 2153-2157.

Hellsten Y, Nyberg M. Cardiovascular Adaptations to Exercise Training. *Comprehensive Physiology*. 2015;6: 1-32.

Hellstrom M, Phng LK, Hofmann JJ, Wallgard E, Coultas L, Lindblom P, Alva J, Nilsson AK, Karlsson L, Gaiano N *et al*. Dll4 signalling through Notch1 regulates formation of tip cells during angiogenesis. *Nature*. 2007;445: 776-780.

Hercule HC, Oyekan AO. Cytochrome P450 omega/omega-1 hydroxylase-derived eicosanoids contribute to endothelin(A) and endothelin(B) receptor-mediated vasoconstriction to endothelin-1 in the rat preglomerular arteriole. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2000;292: 1153-1160.

Higashi Y, Yoshizumi M. Exercise and endothelial function: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. *Pharmacology & therapeutics*. 2004;102: 87-96.

Hill E, Murphy RC. Quantitation of 20-hydroxy-5,8,11,14-eicosatetraenoic acid (20-HETE) produced by human polymorphonuclear leukocytes using electron capture ionization gas chromatography/mass spectrometry. *Biological mass spectrometry*. 1992;21: 249-253.

Hoagland KM, Maier KG, Roman RJ. Contributions of 20-HETE to the antihypertensive effects of Tempol in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension*. 2003;41: 697-702.

Hoff U, Lukitsch I, Chaykovska L, Ladwig M, Arnold C, Manthathi VL, Fuller TF, Schneider W, Gollasch M, Muller DN *et al*. Inhibition of 20-HETE synthesis and action protects the kidney from ischemia/reperfusion injury. *Kidney international*. 2011;79: 57-65.

Hoopes SL, Garcia V, Edin ML, Schwartzman ML, Zeldin DC. Vascular actions of 20-HETE. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2015;120: 9-16.

Huang G, Shi X, Gibson CA, Huang SC, Coudret NA, Ehlman MC. Controlled aerobic exercise training reduces resting blood pressure in sedentary older adults. *Blood pressure*. 2013;22: 386-394.

Hudlicka O. Microcirculation in skeletal muscle. *Muscles, ligaments and tendons journal*. 2011;1: 3-11.

Imig JD. Epoxyeicosatrienoic acids, 20-hydroxyeicosatetraenoic acid, and renal microvascular function. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2013;104-105: 2-7.

Imig JD, Zou AP, Stec DE, Harder DR, Falck JR, Roman RJ. Formation and actions of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid in rat renal arterioles. *The American journal of physiology*. 1996;270: R217-227.

Inoue K, Sodhi K, Puri N, Gotlinger KH, Cao J, Rezzani R, Falck JR, Abraham NG, Laniado-Schwartzman M. Endothelial-specific CYP4A2 overexpression leads to renal injury and hypertension via increased production of 20-HETE. *American journal of physiology Renal physiology*. 2009;297: F875-884.

Inoue R, Jensen LJ, Jian Z, Shi J, Hai L, Lurie AI, Henriksen FH, Salomonsson M, Morita H, Kawarabayashi Y *et al*. Synergistic activation of vascular TRPC6 channel by receptor and mechanical stimulation via phospholipase C/diacylglycerol and phospholipase A2/omega-hydroxylase/20-HETE pathways. *Circulation research*. 2009;104: 1399-1409.

Ishizuka T, Cheng J, Singh H, Vitto MD, Manthathi VL, Falck JR, Laniado-Schwartzman M. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid stimulates nuclear factor-kappaB activation and the production of inflammatory cytokines in human endothelial cells. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2008;324: 103-110.

Ito O, Alonso-Galicia M, Hopp KA, Roman RJ. Localization of cytochrome P-450 4A isoforms along the rat nephron. *The American journal of physiology*. 1998;274: F395-404.

Ito O, Nakamura Y, Tan L, Ishizuka T, Sasaki Y, Minami N, Kanazawa M, Ito S, Sasano H, Kohzuki M. Expression of cytochrome P-450 4 enzymes in the kidney and liver: regulation by PPAR and species-difference between rat and human. *Molecular and cellular biochemistry*. 2006;284: 141-148.

Ito O, Roman RJ. Regulation of P-450 4A activity in the glomerulus of the rat. *The American journal of physiology*. 1999;276: R1749-1757.

- Izawa T, Morikawa M, Inoue M, Mizuta T, Yamashita H, Ohno H, Komabayashi T. Acute or chronic exercise alters angiotensin II-induced contraction of rat aorta. *The Japanese journal of physiology*. 1995;45: 1093-1100.
- Izzard AS, Rizzoni D, Agabiti-Rosei E, Heagerty AM. Small artery structure and hypertension: adaptive changes and target organ damage. *Journal of hypertension*. 2005;23: 247-250.
- Jansakul C. Effect of swimming on vascular reactivity to phenylephrine and KC1 in male rats. *British journal of pharmacology*. 1995;115: 587-594.
- Jasperse JL, Laughlin MH. Endothelial function and exercise training: evidence from studies using animal models. *Medicine and science in sports and exercise*. 2006;38: 445-454.
- Jasperse JL, Woodman CR, Price EM, Hasser EM, Laughlin MH. Hindlimb unweighting decreases ecNOS gene expression and endothelium-dependent dilation in rat soleus feed arteries. *Journal of applied physiology*. 1999;87: 1476-1482.
- Jespersen B, Tykocki NR, Watts SW, Cobbett PJ. Measurement of smooth muscle function in the isolated tissue bath-applications to pharmacology research. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2015: 52324.
- Jia LL, Kang YM, Wang FX, Li HB, Zhang Y, Yu XJ, Qi J, Suo YP, Tian ZJ, Zhu Z *et al*. Exercise training attenuates hypertension and cardiac hypertrophy by modulating neurotransmitters and cytokines in hypothalamic paraventricular nucleus. *PloS one*. 2014;9: e85481.
- Jiang M, Mezentsev A, Kemp R, Byun K, Falck JR, Miano JM, Nasjletti A, Abraham NG, Laniado-Schwartzman M. Smooth muscle--specific expression of CYP4A1 induces endothelial sprouting in renal arterial microvessels. *Circulation research*. 2004;94: 167-174.
- Johnson LR, Laughlin MH. Chronic exercise training does not alter pulmonary vasorelaxation in normal pigs. *Journal of applied physiology*. 2000;88: 2008-2014.

Johnson LR, Rush JW, Turk JR, Price EM, Laughlin MH. Short-term exercise training increases ACh-induced relaxation and eNOS protein in porcine pulmonary arteries. *Journal of applied physiology*. 2001;90: 1102-1110.

Joly E, Seqqat R, Flamion B, Caron N, Michel A, Imig JD, Kramp R. Increased renal vascular reactivity to ANG II after unilateral nephrectomy in the rat involves 20-HETE. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2006;291: R977-986.

Jones AW, Rubin LJ, Magliola L. Endothelin-1 sensitivity of porcine coronary arteries is reduced by exercise training and is gender dependent. *Journal of applied physiology*. 1999;87: 1172-1177.

Joyner MJ, Dietz NM. Sympathetic vasodilation in human muscle. *Acta physiologica Scandinavica*. 2003;177: 329-336.

Kaide J, Zhang F, Wei Y, Wang W, Gopal VR, Falck JR, Laniado-Schwartzman M, Nasjletti A. Vascular CO counterbalances the sensitizing influence of 20-HETE on agonist-induced vasoconstriction. *Hypertension*. 2004;44: 210-216.

Kashimura O, Sakai A, Yanagidaira Y. Effects of exercise-training on hypoxia and angiotensin II-induced pulmonary vasoconstrictions. *Acta physiologica Scandinavica*. 1995;155: 291-295.

Kauser K, Clark JE, Masters BS, Ortiz de Montellano PR, Ma YH, Harder DR, Roman RJ. Inhibitors of cytochrome P-450 attenuate the myogenic response of dog renal arcuate arteries. *Circulation research*. 1991;68: 1154-1163.

Kelley GA, Kelley KA, Tran ZV. Aerobic exercise and resting blood pressure: a meta-analytic review of randomized, controlled trials. *Preventive cardiology*. 2001;4: 73-80.

Kemi OJ, Haram PM, Wisloff U, Ellingsen O. Aerobic fitness is associated with cardiomyocyte contractile capacity and endothelial function in exercise training and detraining. *Circulation*. 2004;109: 2897-2904.

Kerkhof CJ, Bakker EN, Sipkema P. Role of cytochrome P-450 4A in oxygen sensing and NO production in rat cremaster resistance arteries. *The American journal of physiology*. 1999;277: H1546-1552.

Kim SY, Lee J. Exercise Training suppresses vascular fibrosis in aging obesity induced rats. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2014;18: 175-180.

Kingwell BA. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2000;14: 1685-1696.

Kirby BS, Voyles WF, Carlson RE, Dinunno FA. Graded sympatholytic effect of exogenous ATP on postjunctional alpha-adrenergic vasoconstriction in the human forearm: implications for vascular control in contracting muscle. *The Journal of physiology*. 2008;586: 4305-4316.

Knickle LC, Bend JR. Bioactivation of arachidonic acid by the cytochrome P450 monooxygenases of guinea pig lung: the orthologue of cytochrome P450 2B4 is solely responsible for formation of epoxyeicosatrienoic acids. *Molecular pharmacology*. 1994;45: 1273-1280.

Kojda G, Cheng YC, Burchfield J, Harrison DG. Dysfunctional regulation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression in response to exercise in mice lacking one eNOS gene. *Circulation*. 2001;103: 2839-2844.

Korthuis RJ. *Skeletal Muscle Circulation*. 2011. Morgan & Claypool Life Sciences, San Rafael (CA), pp. 1-52.

Kroetz DL, Xu F. Regulation and inhibition of arachidonic acid omega-hydroxylases and 20-HETE formation. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2005;45: 413-438.

Kunduri SS, Mustafa SJ, Ponnoth DS, Dick GM, Nayeem MA. Adenosine A1 receptors link to smooth muscle contraction via CYP4a, protein kinase C-alpha, and ERK1/2. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2013;62: 78-83.

Kunert MP, Roman RJ, Alonso-Galicia M, Falck JR, Lombard JH. Cytochrome P-450 omega-hydroxylase: a potential O₂ sensor in rat arterioles and skeletal muscle cells. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2001;280: H1840-1845.

Kunert MP, Roman RJ, Falck JR, Lombard JH. Differential effect of cytochrome P-450 omega-hydroxylase inhibition on O₂-induced constriction of arterioles in SHR with early and established hypertension. *Microcirculation*. 2001;8: 435-443.

Kuru O, Senturk UK, Kocer G, Ozdem S, Baskurt OK, Cetin A, Yesilkaya A, Gunduz F. Effect of exercise training on resistance arteries in rats with chronic NOS inhibition. *Journal of applied physiology*. 2009;107: 896-902.

Landers-Ramos RQ, Corrigan KJ, Guth LM, Altom CN, Spangenburg EE, Prior SJ, Hagberg JM. Short-term exercise training improves flow-mediated dilation and circulating angiogenic cell number in older sedentary adults. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2016;41: 832-841.

Lange A, Gebremedhin D, Narayanan J, Harder D. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid-induced vasoconstriction and inhibition of potassium current in cerebral vascular smooth muscle is dependent on activation of protein kinase C. *The Journal of biological chemistry*. 1997;272: 27345-27352.

Lash JM. Training-induced alterations in contractile function and excitation-contraction coupling in vascular smooth muscle. *Medicine and science in sports and exercise*. 1998;30: 60-66.

Laterza MC, de Matos LD, Trombetta IC, Braga AM, Roveda F, Alves MJ, Krieger EM, Negrao CE, Rondon MU. Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients. *Hypertension*. 2007;49: 1298-1306.

Laughlin MH, Woodman CR, Schrage WG, Gute D, Price EM. Interval sprint training enhances endothelial function and eNOS content in some arteries that perfuse white gastrocnemius muscle. *Journal of applied physiology*. 2004;96: 233-244.

Lee DL, Wilson JL, Duan R, Hudson T, El-Marakby A. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α Activation Decreases Mean Arterial Pressure, Plasma Interleukin-6, and COX-2 While Increasing Renal CYP4A Expression in an Acute Model of DOCA-Salt Hypertension. *PPAR research*. 2011;2011: 502631.

Leek BT, Mudaliar SR, Henry R, Mathieu-Costello O, Richardson RS. Effect of acute exercise on citrate synthase activity in untrained and trained human skeletal muscle. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2001;280: R441-447.

Lin F, Rios A, Falck JR, Belosludtsev Y, Schwartzman ML. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid is formed in response to EGF and is a mitogen in rat proximal tubule. *The American journal of physiology*. 1995;269: F806-816.

Liu X, Zhu P, Freedman BD. Multiple eicosanoid-activated nonselective cation channels regulate B-lymphocyte adhesion to integrin ligands. *American journal of physiology Cell physiology*. 2006;290: C873-882.

Liu Y, Wang D, Wang H, Qu Y, Xiao X, Zhu Y. The protective effect of HET0016 on brain edema and blood-brain barrier dysfunction after cerebral ischemia/reperfusion. *Brain research*. 2014;1544: 45-53.

Lombard JH, Kunert MP, Roman RJ, Falck JR, Harder DR, Jackson WF. Cytochrome P-450 omega-hydroxylase senses O₂ in hamster muscle, but not cheek pouch epithelium, microcirculation. *The American journal of physiology*. 1999;276: H503-508.

Ma YH, Gebremedhin D, Schwartzman ML, Falck JR, Clark JE, Masters BS, Harder DR, Roman RJ. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid is an endogenous vasoconstrictor of canine renal arcuate arteries. *Circulation research*. 1993;72: 126-136.

MacVicar BA, Newman EA. Astrocyte regulation of blood flow in the brain. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2015;7.

Maiorana A, O'Driscoll G, Dembo L, Cheetham C, Goodman C, Taylor R, Green D. Effect of aerobic and resistance exercise training on vascular function in heart

failure. American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 2000;279: H1999-2005.

Mairbaurl H. Red blood cells in sports: effects of exercise and training on oxygen supply by red blood cells. Frontiers in physiology. 2013;4: 332.

Marchesi C, Paradis P, Schiffrin EL. Role of the renin-angiotensin system in vascular inflammation. Trends in pharmacological sciences. 2008;29: 367-374.

Matsukawa K, Ishii K, Liang N, Endo K. Have we missed that neural vasodilator mechanisms may contribute to exercise hyperemia at onset of voluntary exercise? Frontiers in physiology. 2013;4: 23.

McAllister RM, Jasperse JL, Laughlin MH. Nonuniform effects of endurance exercise training on vasodilation in rat skeletal muscle. Journal of applied physiology. 2005;98: 753-761.

McAllister RM, Kimani JK, Webster JL, Parker JL, Laughlin MH. Effects of exercise training on responses of peripheral and visceral arteries in swine. Journal of applied physiology. 1996;80: 216-225.

McAllister RM, Laughlin MH. Short-term exercise training alters responses of porcine femoral and brachial arteries. Journal of applied physiology. 1997;82: 1438-1444.

McGrath JC, Deighan C, Briones AM, Shafaroudi MM, McBride M, Adler J, Arribas SM, Vila E, Daly CJ. New aspects of vascular remodelling: the involvement of all vascular cell types. Experimental physiology. 2005;90: 469-475.

Medhora M, Chen Y, Gruenloh S, Harland D, Bodiga S, Zielonka J, Gebremedhin D, Gao Y, Falck JR, Anjaiah S *et al.* 20-HETE increases superoxide production and activates NADPH oxidase in pulmonary artery endothelial cells. American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology. 2008;294: L902-911.

Messina EJ, Sun D, Koller A, Wolin MS, Kaley G. Role of endothelium-derived prostaglandins in hypoxia-elicited arteriolar dilation in rat skeletal muscle. Circulation research. 1992;71: 790-796.

Messina EJ, Sun D, Koller A, Wolin MS, Kaley G. Increases in oxygen tension evoke arteriolar constriction by inhibiting endothelial prostaglandin synthesis. *Microvascular research*. 1994;48: 151-160.

Minuz P, Jiang H, Fava C, Turolo L, Tacconelli S, Ricci M, Patrignani P, Morganti A, Lechi A, McGiff JC. Altered release of cytochrome p450 metabolites of arachidonic acid in renovascular disease. *Hypertension*. 2008;51: 1379-1385.

Miyata N, Roman RJ. Role of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) in vascular system. *Journal of smooth muscle research = Nihon Heikatsukin Gakkai kikanishi*. 2005;41: 175-193.

Mortensen SP, Gonzalez-Alonso J, Bune LT, Saltin B, Pilegaard H, Hellsten Y. ATP-induced vasodilation and purinergic receptors in the human leg: roles of nitric oxide, prostaglandins, and adenosine. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2009;296: R1140-1148.

Mortensen SP, Gonzalez-Alonso J, Damsgaard R, Saltin B, Hellsten Y. Inhibition of nitric oxide and prostaglandins, but not endothelial-derived hyperpolarizing factors, reduces blood flow and aerobic energy turnover in the exercising human leg. *The Journal of physiology*. 2007;581: 853-861.

Mortensen SP, Saltin B. Regulation of the skeletal muscle blood flow in humans. *Experimental physiology*. 2014;99: 1552-1558.

Mortensen SP, Thaning P, Nyberg M, Saltin B, Hellsten Y. Local release of ATP into the arterial inflow and venous drainage of human skeletal muscle: insight from ATP determination with the intravascular microdialysis technique. *The Journal of physiology*. 2011;589: 1847-1857.

Mueller PJ. Exercise training and sympathetic nervous system activity: evidence for physical activity dependent neural plasticity. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2007;34: 377-384.

Mukherjee AB, Miele L, Pattabiraman N. Phospholipase A2 enzymes: regulation and physiological role. *Biochemical pharmacology*. 1994;48: 1-10.

Muller-Delp JM, Hotta K, Chen B, Behnke BJ, Maraj JJ, Delp MD, Lucero TR, Bramy JA, Alarcon DB, Morgan HE *et al.* Effects of age and exercise training on coronary microvascular smooth muscle phenotype and function. *Journal of applied physiology*. 2017: jap 00459 02017.

Muthalif MM, Benter IF, Karzoun N, Fatima S, Harper J, Uddin MR, Malik KU. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid mediates calcium/calmodulin-dependent protein kinase II-induced mitogen-activated protein kinase activation in vascular smooth muscle cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95: 12701-12706.

Muthalif MM, Benter IF, Khandekar Z, Gaber L, Estes A, Malik S, Parmentier JH, Manne V, Malik KU. Contribution of Ras GTPase/MAP kinase and cytochrome P450 metabolites to deoxycorticosterone-salt-induced hypertension. *Hypertension*. 2000;35: 457-463.

Muthalif MM, Uddin MR, Fatima S, Parmentier JH, Khandekar Z, Malik KU. Small GTP binding protein Ras contributes to norepinephrine-induced mitogenesis of vascular smooth muscle cells. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2001;65: 33-43.

Nakagawa K, Marji JS, Schwartzman ML, Waterman MR, Capdevila JH. Androgen-mediated induction of the kidney arachidonate hydroxylases is associated with the development of hypertension. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2003;284: R1055-1062.

Nakamura T, Ishii T, Miyata N, Taniguchi K, Tomishima Y, Ueki T, Sato M. Design and synthesis of 1-(4-benzoylphenyl)imidazole derivatives as new potent 20-HETE synthase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2004;14: 5305-5308.

O'Donnell VB, Maskrey B, Taylor GW. Eicosanoids: generation and detection in mammalian cells. *Methods in molecular biology*. 2009;462: 5-23.

Omata K, Abraham NG, Schwartzman ML. Renal cytochrome P-450-arachidonic acid metabolism: localization and hormonal regulation in SHR. *The American journal of physiology*. 1992;262: F591-599.

Orozco LD, Liu H, Perkins E, Johnson DA, Chen BB, Fan F, Baker RC, Roman RJ. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid inhibition attenuates balloon injury-induced neointima formation and vascular remodeling in rat carotid arteries. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2013;346: 67-74.

Oyekan A, Balazy M, McGiff JC. Renal oxygenases: differential contribution to vasoconstriction induced by ET-1 and ANG II. *The American journal of physiology*. 1997;273: R293-300.

Oyekan AO, McGiff JC. Cytochrome P-450-derived eicosanoids participate in the renal functional effects of ET-1 in the anesthetized rat. *The American journal of physiology*. 1998;274: R52-61.

Park Y, Prisby RD, Behnke BJ, Dominguez JM, 2nd, Lesniewski LA, Donato AJ, Muller-Delp J, Delp MD. Effects of aging, TNF-alpha, and exercise training on angiotensin II-induced vasoconstriction of rat skeletal muscle arterioles. *Journal of applied physiology*. 2012;113: 1091-1100.

Parmentier JH, Muthalif MM, Nishimoto AT, Malik KU. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid mediates angiotensin ii-induced phospholipase d activation in vascular smooth muscle cells. *Hypertension*. 2001;37: 623-629.

Pat Kunert M, Drenjancevic I. 20-hydroxyeicosatetraenoic acid, endothelial dysfunction and hypertension. *Medicinski glasnik : official publication of the Medical Association of Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina*. 2011;8: 170-180.

Peterson DF, Armstrong RB, Laughlin MH. Sympathetic neural influences on muscle blood flow in rats during submaximal exercise. *Journal of applied physiology*. 1988;65: 434-440.

Pierzga JM, Segal SS. Spatial relationships between neuromuscular junctions and microvessels in hamster cremaster muscle. *Microvascular research*. 1994;48: 50-67.

Plowman S, Smith, D. . Cardiovascular responses to exercise *Exercise Physiology for Health, Fitness, and Performance*. 2011. Lippincott Williams & Wilkins, pp. 355-380.

Pohl U, Busse R. Hypoxia stimulates release of endothelium-derived relaxant factor. *The American journal of physiology*. 1989;256: H1595-1600.

Praetorius HA, Leipziger J. ATP release from non-excitabile cells. Purinergic signalling. 2009;5: 433-446.

Pratt PF, Falck JR, Reddy KM, Kurian JB, Campbell WB. 20-HETE relaxes bovine coronary arteries through the release of prostacyclin. *Hypertension*. 1998;31: 237-241.

Pries AR, Heide J, Ley K, Klotz KF, Gaehtgens P. Effect of oxygen tension on regulation of arteriolar diameter in skeletal muscle in situ. *Microvascular research*. 1995;49: 289-299.

Qi L, Meng L, Li Y, Qu Y. Arterial carbon dioxide partial pressure influences CYP4A distribution in the rat brain. *Histology and histopathology*. 2012;27: 897-903.

Radegran G, Saltin B. Nitric oxide in the regulation of vasomotor tone in human skeletal muscle. *The American journal of physiology*. 1999;276: H1951-1960.

Randriamboavonjy V, Busse R, Fleming I. 20-HETE-induced contraction of small coronary arteries depends on the activation of Rho-kinase. *Hypertension*. 2003;41: 801-806.

Regner KR, Zuk A, Van Why SK, Shames BD, Ryan RP, Falck JR, Manthati VL, McMullen ME, Ledbetter SR, Roman RJ. Protective effect of 20-HETE analogues in experimental renal ischemia reperfusion injury. *Kidney international*. 2009;75: 511-517.

Remensnyder JP, Mitchell JH, Sarnoff SJ. Functional sympatholysis during muscular activity. Observations on influence of carotid sinus on oxygen uptake. *Circulation research*. 1962;11: 370-380.

Renic M, Klaus JA, Omura T, Kawashima N, Onishi M, Miyata N, Koehler RC, Harder DR, Roman RJ. Effect of 20-HETE inhibition on infarct volume and cerebral blood flow after transient middle cerebral artery occlusion. *Journal of cerebral blood*

flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism. 2009;29: 629-639.

Renic M, Kumar SN, Gebremedhin D, Florence MA, Gerges NZ, Falck JR, Harder DR, Roman RJ. Protective effect of 20-HETE inhibition in a model of oxygen-glucose deprivation in hippocampal slice cultures. American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 2012;302: H1285-1293.

Renna NF. Oxidative stress, vascular remodeling, and vascular inflammation in hypertension. International journal of hypertension. 2013;2013: 710136.

Renna NF, de Las Heras N, Miatello RM. Pathophysiology of vascular remodeling in hypertension. International journal of hypertension. 2013;2013: 808353.

Risau W. Mechanisms of angiogenesis. Nature. 1997;386: 671-674.

Roman RJ. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. Physiological reviews. 2002;82: 131-185.

Roque FR, Briones AM, Garcia-Redondo AB, Galan M, Martinez-Revelles S, Avendano MS, Cachafeiro V, Fernandes T, Vassallo DV, Oliveira EM *et al.* Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. British journal of pharmacology. 2013;168: 686-703.

Rosenmeier JB, Hansen J, Gonzalez-Alonso J. Circulating ATP-induced vasodilatation overrides sympathetic vasoconstrictor activity in human skeletal muscle. The Journal of physiology. 2004;558: 351-365.

Rosolowsky M, Falck JR, Campbell WB. Metabolism of arachidonic acid by canine polymorphonuclear leukocytes synthesis of lipoxygenase and omega-oxidized metabolites. Biochimica et biophysica acta. 1996;1300: 143-150.

Rowell LB. Ideas about control of skeletal and cardiac muscle blood flow (1876-2003): cycles of revision and new vision. Journal of applied physiology. 2004;97: 384-392.

Sacerdoti D, Abraham NG, McGiff JC, Schwartzman ML. Renal cytochrome P-450-dependent metabolism of arachidonic acid in spontaneously hypertensive rats. *Biochemical pharmacology*. 1988;37: 521-527.

Saltin B, Mortensen SP. Inefficient functional sympatholysis is an overlooked cause of malperfusion in contracting skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2012;590: 6269-6275.

Sander M, Chavoshan B, Harris SA, Iannaccone ST, Stull JT, Thomas GD, Victor RG. Functional muscle ischemia in neuronal nitric oxide synthase-deficient skeletal muscle of children with Duchenne muscular dystrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000;97: 13818-13823.

Sandoo A, van Zanten JJ, Metsios GS, Carroll D, Kitas GD. The endothelium and its role in regulating vascular tone. *The open cardiovascular medicine journal*. 2010;4: 302-312.

Sarelius I, Pohl U. Control of muscle blood flow during exercise: local factors and integrative mechanisms. *Acta physiologica*. 2010;199: 349-365.

Sato M, Ishii T, Kobayashi-Matsunaga Y, Amada H, Taniguchi K, Miyata N, Kameo K. Discovery of a N'-hydroxyphenylformamidine derivative HET0016 as a potent and selective 20-HETE synthase inhibitor. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2001;11: 2993-2995.

Schiffrin EL. Remodeling of resistance arteries in essential hypertension and effects of antihypertensive treatment. *American journal of hypertension*. 2004;17: 1192-1200.

Schuler G, Adams V, Goto Y. Role of exercise in the prevention of cardiovascular disease: results, mechanisms, and new perspectives. *European heart journal*. 2013;34: 1790-1799.

Secomb TW. Theoretical models for regulation of blood flow. *Microcirculation*. 2008;15: 765-775.

Segal SS. Regulation of blood flow in the microcirculation. *Microcirculation*. 2005;12: 33-45.

Semlitsch T, Jeitler K, Hemkens LG, Horvath K, Nagele E, Schuermann C, Pignitter N, Herrmann KH, Waffenschmidt S, Siebenhofer A. Increasing physical activity for the treatment of hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Sports medicine*. 2013;43: 1009-1023.

Shepherd RE, Kuehne ML, Kenno KA, Durstine JL, Balon TW, Rapp JP. Attenuation of blood pressure increases in Dahl salt-sensitive rats by exercise. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*. 1982;52: 1608-1613.

Siekman AF, Lawson ND. Notch signalling limits angiogenic cell behaviour in developing zebrafish arteries. *Nature*. 2007;445: 781-784.

Singh H, Cheng J, Deng H, Kemp R, Ishizuka T, Nasjletti A, Schwartzman ML. Vascular cytochrome P450 4A expression and 20-hydroxyeicosatetraenoic acid synthesis contribute to endothelial dysfunction in androgen-induced hypertension. *Hypertension*. 2007;50: 123-129.

Singh H, Schwartzman ML. Renal vascular cytochrome P450-derived eicosanoids in androgen-induced hypertension. *Pharmacological reports : PR*. 2008;60: 29-37.

Sodhi K, Wu CC, Cheng J, Gotlinger K, Inoue K, Goli M, Falck JR, Abraham NG, Schwartzman ML. CYP4A2-induced hypertension is 20-hydroxyeicosatetraenoic acid- and angiotensin II-dependent. *Hypertension*. 2010;56: 871-878.

Somers VK, Conway J, Johnston J, Sleight P. Effects of endurance training on baroreflex sensitivity and blood pressure in borderline hypertension. *Lancet*. 1991;337: 1363-1368.

Spier SA, Laughlin MH, Delp MD. Effects of acute and chronic exercise on vasoconstrictor responsiveness of rat abdominal aorta. *Journal of applied physiology*. 1999;87: 1752-1757.

Spiers A, Padmanabhan N. A guide to wire myography. *Methods in molecular medicine*. 2005;108: 91-104.

Sprague RS, Ellsworth ML. Erythrocyte-derived ATP and perfusion distribution: role of intracellular and intercellular communication. *Microcirculation*. 2012;19: 430-439.

Sprague RS, Stephenson AH, Ellsworth ML. Red not dead: signaling in and from erythrocytes. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2007;18: 350-355.

Spranger MD, Krishnan AC, Levy PD, O'Leary DS, Smith SA. Blood flow restriction training and the exercise pressor reflex: a call for concern. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2015;309: H1440-1452.

Stec DE, Gannon KP, Beaird JS, Drummond HA. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) stimulates migration of vascular smooth muscle cells. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2007;19: 121-128.

Sugawara J, Komine H, Hayashi K, Yoshizawa M, Otsuki T, Shimojo N, Miyauchi T, Yokoi T, Maeda S, Tanaka H. Systemic alpha-adrenergic and nitric oxide inhibition on basal limb blood flow: effects of endurance training in middle-aged and older adults. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2007;293: H1466-1472.

Sun CW, Alonso-Galicia M, Taheri MR, Falck JR, Harder DR, Roman RJ. Nitric oxide-20-hydroxyeicosatetraenoic acid interaction in the regulation of K⁺ channel activity and vascular tone in renal arterioles. *Circulation research*. 1998;83: 1069-1079.

Sun CW, Falck JR, Harder DR, Roman RJ. Role of tyrosine kinase and PKC in the vasoconstrictor response to 20-HETE in renal arterioles. *Hypertension*. 1999;33: 414-418.

Sun D, Huang A, Koller A, Kaley G. Short-term daily exercise activity enhances endothelial NO synthesis in skeletal muscle arterioles of rats. *Journal of applied physiology*. 1994;76: 2241-2247.

Sun D, Huang A, Koller A, Kaley G. Adaptation of flow-induced dilation of arterioles to daily exercise. *Microvascular research*. 1998;56: 54-61.

Symons JD, Rendig SV, Stebbins CL, Longhurst JC. Microvascular and myocardial contractile responses to ischemia: influence of exercise training. *Journal of applied physiology*. 2000;88: 433-442.

Thijssen DH, Maiorana AJ, O'Driscoll G, Cable NT, Hopman MT, Green DJ. Impact of inactivity and exercise on the vasculature in humans. *European journal of applied physiology*. 2010;108: 845-875.

Thijssen DH, Rongen GA, Smits P, Hopman MT. Physical (in)activity and endothelium-derived constricting factors: overlooked adaptations. *The Journal of physiology*. 2008;586: 319-324.

Thijssen DH, Rongen GA, van Dijk A, Smits P, Hopman MT. Enhanced endothelin-1-mediated leg vascular tone in healthy older subjects. *Journal of applied physiology*. 2007;103: 852-857.

Thomas GD, Hansen J, Victor RG. ATP-sensitive potassium channels mediate contraction-induced attenuation of sympathetic vasoconstriction in rat skeletal muscle. *The Journal of clinical investigation*. 1997;99: 2602-2609.

Thomas GD, Segal SS. Neural control of muscle blood flow during exercise. *Journal of applied physiology*. 2004;97: 731-738.

Thomas GD, Victor RG. Nitric oxide mediates contraction-induced attenuation of sympathetic vasoconstriction in rat skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 1998;506 (Pt 3): 817-826.

Toth P, Csiszar A, Sosnowska D, Tucsek Z, Cseplo P, Springo Z, Tarantini S, Sonntag WE, Ungvari Z, Koller A. Treatment with the cytochrome P450 omega-hydroxylase inhibitor HET0016 attenuates cerebrovascular inflammation, oxidative stress and improves vasomotor function in spontaneously hypertensive rats. *British journal of pharmacology*. 2013;168: 1878-1888.

Tsai IJ, Croft KD, Puddey IB, Beilin LJ, Barden A. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid synthesis is increased in human neutrophils and platelets by angiotensin II and endothelin-1. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2011;300: H1194-1200.

Tschakovsky ME, Pyke, K.E. Control of Skeletal Muscle Microcirculation in Exercise. In Connes P (ed) *Exercise Physiology: From a Cellular to an Integrative Approach*. 2010. IOS, Amsterdam, pp. 192-203.

Tunctan B, Korkmaz B, Buharalioglu CK, Firat SS, Anjaiah S, Falck J, Roman RJ, Malik KU. A 20-hydroxyeicosatetraenoic acid agonist, N-[20-hydroxyeicosa-5(Z),14(Z)-dienoyl]glycine, opposes the fall in blood pressure and vascular reactivity in endotoxin-treated rats. *Shock*. 2008;30: 329-335.

Tunctan B, Korkmaz B, Sari AN, Kacan M, Unsal D, Serin MS, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Cuez T, Schunck WH *et al*. Contribution of iNOS/sGC/PKG pathway, COX-2, CYP4A1, and gp91(phox) to the protective effect of 5,14-HEDGE, a 20-HETE mimetic, against vasodilation, hypotension, tachycardia, and inflammation in a rat model of septic shock. *Nitric oxide : biology and chemistry*. 2013;33: 18-41.

Ulker SN, Kocer G, Senturk UK. Carbon monoxide does not contribute to vascular tonus improvement in exercise-trained rats with chronic nitric oxide synthase inhibition. *Nitric oxide : biology and chemistry*. 2017;65: 60-67.

Van Guilder GP, Westby CM, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA. Endothelin-1 vasoconstrictor tone increases with age in healthy men but can be reduced by regular aerobic exercise. *Hypertension*. 2007;50: 403-409.

Vikulov AD, Drattsev E, Mel'nikov AA, Alekhin VV. [Vascular tone and regular physical exercise]. *Fiziologiya cheloveka*. 2009;35: 127-133.

Waldman M, Peterson SJ, Arad M, Hochhauser E. The role of 20-HETE in cardiovascular diseases and its risk factors. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2016;125: 108-117.

Wang J, Li H, He J, Li B, Bao Q, Zhang X, Lv Z, Zhang Y, Han J, Ai D *et al*. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid involved in endothelial activation and thrombosis.

American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 2015;308: H1359-1367.

Wang J, Wolin MS, Hintze TH. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation of epicardial coronary artery in conscious dogs. Circulation research. 1993;73: 829-838.

Wang JS, Singh H, Zhang F, Ishizuka T, Deng H, Kemp R, Wolin MS, Hintze TH, Abraham NG, Nasjletti A *et al.* Endothelial dysfunction and hypertension in rats transduced with CYP4A2 adenovirus. Circulation research. 2006;98: 962-969.

Wang MH, Zhang F, Marji J, Zand BA, Nasjletti A, Laniado-Schwartzman M. CYP4A1 antisense oligonucleotide reduces mesenteric vascular reactivity and blood pressure in SHR. American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology. 2001;280: R255-261.

Watts SW, Kanagy, N.L., Lombard, J.H. . Receptor-Mediated Events in the Microcirculation. In Tuma RF, Walter, D.N., Ley, K. (ed) Microcirculation. 2008. Academic Press, San Diego.

Welsh DG, Segal SS. Coactivation of resistance vessels and muscle fibers with acetylcholine release from motor nerves. The American journal of physiology. 1997;273: H156-163.

Wen H, Ostman J, Bubb KJ, Panayiotou C, Priestley JV, Baker MD, Ahluwalia A. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) is a novel activator of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channel. The Journal of biological chemistry. 2012;287: 13868-13876.

Whelton SP, Chin A, Xin X, He J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. Annals of internal medicine. 2002;136: 493-503.

Whyte JJ, Laughlin MH. The effects of acute and chronic exercise on the vasculature. Acta physiologica. 2010;199: 441-450.

Wihlborg AK, Malmsjo M, Eyjolfsson A, Gustafsson R, Jacobson K, Erlinge D. Extracellular nucleotides induce vasodilatation in human arteries via prostaglandins, nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarising factor. *British journal of pharmacology*. 2003;138: 1451-1458.

Williams JM, Murphy S, Burke M, Roman RJ. 20-hydroxyeicosatetraenoic acid: a new target for the treatment of hypertension. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2010;56: 336-344.

Woodman CR, Muller JM, Laughlin MH, Price EM. Induction of nitric oxide synthase mRNA in coronary resistance arteries isolated from exercise-trained pigs. *The American journal of physiology*. 1997;273: H2575-2579.

Wu CC, Cheng J, Zhang FF, Gotlinger KH, Kelkar M, Zhang Y, Jat JL, Falck JR, Schwartzman ML. Androgen-dependent hypertension is mediated by 20-hydroxy-5,8,11,14-eicosatetraenoic acid-induced vascular dysfunction: role of inhibitor of kappaB Kinase. *Hypertension*. 2011;57: 788-794.

Wu CC, Gupta T, Garcia V, Ding Y, Schwartzman ML. 20-HETE and blood pressure regulation: clinical implications. *Cardiology in review*. 2014;22: 1-12.

Wu CC, Mei S, Cheng J, Ding Y, Weidenhammer A, Garcia V, Zhang F, Gotlinger K, Manthathi VL, Falck JR *et al*. Androgen-sensitive hypertension associates with upregulated vascular CYP4A12-20-HETE synthase. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2013;24: 1288-1296.

Wu CC, Schwartzman ML. The role of 20-HETE in androgen-mediated hypertension. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2011;96: 45-53.

Wu JH, Hodgson JM, Clarke MW, Indrawan AP, Barden AE, Puddey IB, Croft KD. Inhibition of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid synthesis using specific plant lignans: in vitro and human studies. *Hypertension*. 2009;54: 1151-1158.

Xu F, Falck JR, Ortiz de Montellano PR, Kroetz DL. Catalytic activity and isoform-specific inhibition of rat cytochrome p450 4F enzymes. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2004;308: 887-895.

Yaghi A, Webb CD, Scott JA, Mehta S, Bend JR, McCormack DG. Cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid but not cyclooxygenase-2 metabolites contribute to the pulmonary vascular hyporeactivity in rats with acute *Pseudomonas pneumonia*. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2001;297: 479-488.

Yaghini FA, Zhang C, Parmentier JH, Estes AM, Jafari N, Schaefer SA, Malik KU. Contribution of arachidonic acid metabolites derived via cytochrome P4504A to angiotensin II-induced neointimal growth. *Hypertension*. 2005;45: 1182-1187.

Yanes LL, Lima R, Moulana M, Romero DG, Yuan K, Ryan MJ, Baker R, Zhang H, Fan F, Davis DD *et al*. Postmenopausal hypertension: role of 20-HETE. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2011;300: R1543-1548.

Yousif MH, Benter IF, Roman RJ. Cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid play a role in the enhanced cardiac dysfunction in diabetic rats following ischaemic reperfusion injury. *Autonomic & autacoid pharmacology*. 2009;29: 33-41.

Yuan D, Zou Q, Yu T, Song C, Huang S, Chen S, Ren Z, Xu A. Ancestral genetic complexity of arachidonic acid metabolism in Metazoa. *Biochimica et biophysica acta*. 2014;1841: 1272-1284.

Zeldin DC. Epoxygenase pathways of arachidonic acid metabolism. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276: 36059-36062.

Zhang F, Wang MH, Krishna UM, Falck JR, Laniado-Schwartzman M, Nasjletti A. Modulation by 20-HETE of phenylephrine-induced mesenteric artery contraction in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Hypertension*. 2001;38: 1311-1315.

Zhang F, Wang MH, Wang JS, Zand B, Gopal VR, Falck JR, Laniado-Schwartzman M, Nasjletti A. Transfection of CYP4A1 cDNA decreases diameter and increases responsiveness of gracilis muscle arterioles to constrictor stimuli. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2004;287: H1089-1095.

Zhu D, Birks EK, Dawson CA, Patel M, Falck JR, Presberg K, Roman RJ, Jacobs ER. Hypoxic pulmonary vasoconstriction is modified by P-450 metabolites. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2000;279: H1526-1533.

Zhu D, Effros RM, Harder DR, Roman RJ, Jacobs ER. Tissue sources of cytochrome P450 4A and 20-HETE synthesis in rabbit lungs. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 1998;19: 121-128.

Zhu D, Zhang C, Medhora M, Jacobs ER. CYP4A mRNA, protein, and product in rat lungs: novel localization in vascular endothelium. *Journal of applied physiology*. 2002;93: 330-337.

Zordoky BN, Anwar-Mohamed A, Aboutabl ME, El-Kadi AO. Acute doxorubicin cardiotoxicity alters cardiac cytochrome P450 expression and arachidonic acid metabolism in rats. *Toxicology and applied pharmacology*. 2010;242: 38-46.

Zou AP, Fleming JT, Falck JR, Jacobs ER, Gebremedhin D, Harder DR, Roman RJ. 20-HETE is an endogenous inhibitor of the large-conductance Ca(2+)-activated K⁺ channel in renal arterioles. *The American journal of physiology*. 1996;270: R228-237.

Zou AP, Imig JD, Kaldunski M, Ortiz de Montellano PR, Sui Z, Roman RJ. Inhibition of renal vascular 20-HETE production impairs autoregulation of renal blood flow. *The American journal of physiology*. 1994;266: F275-282.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

| | | | |
|---------------------|------------|----------------|---------------------------|
| Adı | Seher | Uyruğu | TC |
| Soyadı | ÜLKER | Tel no | 0506 994 80 06 |
| Doğum tarihi | 10.05.1983 | e-posta | sehernasircilar@gmail.com |

Eğitim Bilgileri

| Mezun olduğu kurum | | Mezuniyet yılı |
|----------------------|--|----------------|
| Lise | Karatay Süper Lisesi | 2001 |
| Lisans | Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü | 2006 |
| Yüksek Lisans | Akdeniz Ünv. Tıp. Fak. Fizyoloji ABD | 2011 |
| Doktora | Akdeniz Ünv. Tıp. Fak. Fizyoloji ABD | 2018 |

İş Deneyimi

| Görevi | Kurum | Süre (yıl-yıl) |
|-----------|---|----------------|
| Arş. Gör. | Akdeniz Ünv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü | 2010-2018 |

| Yabancı Dilleri | Sınav türü | Puanı |
|-----------------|------------|-------|
| İngilizce | Yökdi | 76,25 |

Proje Deneyimi

| Proje Adı | Destekleyen kurum | Süre (Yıl-Yıl) |
|---|--------------------------|----------------|
| Antrene Sıçanlarda 20-HETE'nin Direnç ve İletim Tipi Arterlerde Vasküler Tonusa Etkisi | Akdeniz Üniversitesi BAP | 2015-2018 |
| Düzenli Yüzme Egzersizi ile Antrene Hale Gelen Sıçanlarda 20-hidroksieikosatetraenoik Asidin Direnç ve İletim Tipi Arterlerde Vazokonstriktör Yanıtlara Katkısı | TÜBİTAK | 2015-2016 |
| L-NAME Hipertansiyon Modelinde Magnezyumun İletim Tipi ve Rezistans Damarların Kasılma ve Gevşeme Yanıtları Üzerine Etkisi | Akdeniz Üniversitesi BAP | 2011-2015 |
| Çeşitli Organların Damar Ağaçlarında Yaşlanmaya Bağlı Karbon Monoksit Gevşeme Yanıtlarındaki Değişiklikler | Akdeniz Üniversitesi BAP | 2009-2015 |
| Farklı Damar Yataklarında ve Segmentlerinde Karbon Monoksitin Vasküler Tonusa Katkısı: Tanımlayıcı Bir Çalışma | Akdeniz Üniversitesi BAP | 2010-2012 |
| Nitrik Oksit Sentaz İnhibisyonuna Bağlı Hipertansiyon Modelinde Egzersizin Direnç Damarlarında Karbonmonoksit Yolağına Etkisi | Akdeniz Üniversitesi BAP | 2010-2011 |

Burslar-Ödüller:

Filiz Basralı, **Seher Ülker**, Pınar Ülker Karadamar, Günnur Koçer, Leyla Satı, Nur Özen, Ümit Kemal Şentürk. “L-NAME Hipertansiyon Modelinde Magnezyum Tedavisinin Direnç Damarları Üzerine Etkisi”, 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 25-29 Eylül 2012, Trabzon. (Poster İkincilik Ödülü)

Yayınlar ve Bildiriler:

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Gündüz F, Koçer G, Ülker S, Meiselman HJ, Başkurt OK, Şentürk UK. Exercise training enhances flow-mediated dilation in spontaneously hypertensive rats. *Physiol Res*, 2011;60(4):589-97.
2. Arlier Z, Basar M, Kocamaz E, Kiraz K, Tanrioer G, Kocer G, Arlier S, Semih G, Nasırcılar S, Gunduz F, Senturk UK, Demir N. Hypertension alters phosphorylation of VASP in brain endothelial cells. *Int J Neurosci*, 2015;125(4):288-97.
3. Basralı F, Nasırcılar Ülker S, Koçer G, Ülker Karadamar P, Özyurt D, Cengiz M, Şentürk ÜK. Effect of magnesium on vascular reactivity in NOS inhibition-induced hypertension. *Magnes Res*, 2015;28(2):64-74.
4. Basralı F, Koçer G, Ülker Karadamar P, Nasırcılar Ülker S, Satı L, Özen N, Özyurt D, Şentürk ÜK. Effect of magnesium supplementation on blood pressure and vascular reactivity in nitric oxide synthase inhibition-induced hypertension model. *Clin Exp Hypertens*, 2015;37(8):633-42.
5. Ozsoy O, Aras S, Ulker Karadamar P, Nasırcılar Ülker S, Kocer G, Senturk UK, Basrali F, Yargicoglu P, Ozyurt D, Agar A. The Effect of Magnesium on Visual Evoked Potentials in L-NAME-Induced Hypertensive Rats. *Biol Trace Elem Res*, 2016;172(2):372-9.
6. Ozkan A, Parlak H, Tanrioer G, Dilmac S, Nasırcılar Ülker S, Birsen I, Agar A. The protective mechanism of docosahexaenoic acid in mouse model of Parkinson: The role of hemeoxygenase. *Neurochemistry International*, 2016;101:110-119.
7. Nasırcılar Ülker S, Koçer G, Şentürk UK. Carbon monoxide does not contribute to vascular tonus improvement in exercise-trained rats with chronic nitric oxide synthase inhibition. *Nitric Oxide*, 2017;65:60-67.
8. Özen N, Nasırcılar Ülker S, Ülker P, Özcan F, Aslan M, Şentürk ÜK, Basralı F. Effect of 20-HETE inhibition on L-NAME-induced hypertension in rats. *Clin Exp Hypertens*. 2017;Oct 31:1-11.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler.

1. Gündüz F, Koçer G, Ulker S, Şentürk UK. The Involment Of Carbon Monoxide The Contraction Responses In Mesenteric Vascular Bed In Young And Old Rats. Turkish- FEPS Physiology Congress, ISTANBUL, TURKEY, 2011.
2. Ulker S, Kocer G, Şentürk UK. Effect Of Swimming Exercise On CO Pathway Of Resistance And Conduit Arteries In Chronic NOS Inhibition Induced Hypertensive Rats. FEPS Physiology Congress, BUDAPEST, HUNGARY, 2014.
3. Kocer G, Ulker S, Sentürk UK. Contribution Of Carbon Monoxide On Vascular Tonus In Different Vascular Beds And Segments. A Descriptive Study. FEPS Physiology Congress, BUDAPEST, HUNGARY, 2014.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

1. Ülker S., Koçer G., Gündüz F., Şentürk Ü.K., "Spontan Hipertansif Sıçanların Gastroninemi Direnç Arterlerinde Karbonmonoksit Yanıtları", 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi, EDİRNE, TÜRKİYE, 14-17 Eylül 2010.
2. Gündüz F., Koçer G., Ülker S., Meiselman H.J., Başkurt O.K. , Şentürk Ü.K., "Spontan Hipertansif Sıçanlarda Egzersizin Akım Aracılı Gevşeme Üzerine Etkisi", 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi, EDİRNE, TÜRKİYE, 14-17 Eylül 2010.
3. Koçer G., Ülker S.,Gündüz F., Şentürk Ü.K., "Spontan Hipertansif Sıçanların Böbrek Direnç Arterlerinde Karbonmonoksit Yanıtları", 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi, EDİRNE, TÜRKİYE, 14-17 Eylül 2010.
4. Koçer G., Ülker S., Basrali F., Şentürk Ü.K., "Antrene Spontan Hipertansif Sıçanların Gastroknemius Direnç Arterlerinde Karbon Monoksit Yanıtları.", III. Egzersiz Fizyolojisi Sempozyumu., ADANA, TÜRKİYE, 13-14 Mayıs 2011.
5. Basrali F., Koçer G., Ülker Karadamar P., Ülker S., Sati G.L., Özen N., et al., "Nos İnhibisyonu Hipertansiyon Modelinde Magnezyum Tedavisinin Aort Kasılma ve

Gevşeme Yanıtları Üzerine Etkisi", 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, TRABZON, TÜRKİYE, 25-29 Eylül 2012.

6. Basrali F., Ülker S., Koçer G., Ülker Karadamar P., Sati G.L., Özen N., et al., "L-NAME Hipertansiyon Modelinde Magnezyum Tedavisinin Direnç Damarları Üzerine Etkisi", 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, TRABZON, TÜRKİYE, 25-29 Eylül 2012.

7. Koçer G., Ülker S., Şentürk Ü.K., "Farklı Damar Yataklarında ve Segmentlerinde, Karbonmonoksidin Vasküler Tonusa Katkısı", 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, TRABZON, TÜRKİYE, 25-29 Eylül 2012.

8. Ülker S., Koçer G., Şentürk Ü.K., "Nitrik Oksit Sentaz İnhibisyonuna Bağlı Hipertansiyon Modelinde Egzersizin Torasik Aortada Karbon Monoksit Yolağına Etkisi", 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, TRABZON, TÜRKİYE, 25-29 Eylül 2012.

9. Basrali F., Koçer G., Ülker S., Ülker Karadamar P., Şentürk Ü.K., "L-NAME Hipertansiyon Modelinde Yüksek ve Düşük Magnezyum Konsantrasyonlarının Aort Kasılma ve Gevşeme Yanıtları Üzerine Etkisi", 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ANKARA, TÜRKİYE, 10-14 Eylül 2013.

10. Kocer G., Ülker S., Şentürk Ü.K., "Torasik aortada yaşlanmaya bağlı karbonmonoksit gevşeme yanıtındaki değişiklikler.", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 40. Ulusal Kongresi, KAYSERİ, TÜRKİYE, 2-6 Eylül 2014.

11. Ülker S., Kocer G., Şentürk Ü.K., "Yaşlı Sıçanlarda Karbonmonoksidin Pial Arter Vasküler Tonüsüne Katkısı. ", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 40. Ulusal Kongresi, KAYSERİ, TÜRKİYE, 2-6 Eylül 2014.

12. Basrali F., Ülker Karadamar P., Özer N., Ülker S., Kocer G., Özyurt D., et al., "L-NAME Hipertansiyon Modelinde Magnezyum Tedavisinin Akım Aracılı Gevşeme Yanıtına Etkisi.", Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 40. Ulusal Kongresi, KAYSERİ, TÜRKİYE, 2-6 Eylül 2014.

13. Ozkan A., Parlak H., Ülker S., Dilmaç S., Ağar A., "The Role of Heme Oxygenase on the Protective Effect of Docosahexaenoic Acid in an Experimental

Model of Parkinson's Disease", 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 9-13 Eylül 2015.

14. Koçer G., Ülker S., Şentürk Ü.K., "The Contribution of Carbon Monoxide to Age-dependent Changes in Renal Vascular Tonus", 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 9-13 Eylül 2015.

15. Basrali F., Özen N., Ülker S., Şentürk Ü.K., "The Effect of P450 Enzyme Inhibition on Vascular Responsiveness in LNAME Hypertension Model", 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 9-13 Eylül 2015.

16. Ülker S., Koçer G., Şentürk Ü.K., "The Contribution of Carbon Monoxide to Vascular Tonus in Pulmonary Vascular Bed", 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 9-13 Eylül 2015.

17. Ozen N., Ülker S., Şentürk Ü.K., Basrali F., "Role of 20-HETE in Nitric Oxide Synthase Inhibition-induced Hypertension Model", 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 9-13 Eylül 2015.

18. Koçer G., Ülker S., Olgar Y., Erboğa NÖ., Özdemir S., "Yaşlı Sıçanların Karbon Monoksit Gevşeme Yanıtlarına Yüzme Egzersizinin Katkısı", Sanko Üniversitesi Tıpta İnovasyon Buluşmaları III, GAZİANTEP, TÜRKİYE, 11-13 Mayıs 2017.

19. Koçer G., Ülker S., Olgar Y., Erboğa NÖ., Özdemir S. "Yaşlanma ve Yüzme Egzersizinin İskelet Kası İletim Arterlerinde Karbon Monoksit Gevşeme Yanıtına Etkisi", 43. Ulusal Fizyoloji Kongresi, DENİZLİ, TÜRKİYE, 07-10 Eylül 2017.