

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Fizyoloji Anabilim Dalı**

**NİTRİK OKSİT SENTAZ İNHİBİSYONUNA BAĞLI  
HİPERTANSİYON MODELİNDE EGZERSİZİN DİRENÇ  
DAMARLARINDA KARBONMONOKSİT  
YOLAĞINA ETKİSİ**

**Seher ÜLKER**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Antalya, 2011**

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Fizyoloji Anabilim Dalı**

**NİTRİK OKSİT SENTAZ İNHİBİSYONUNA BAĞLI  
HİPERTANSİYON MODELİNDE EGZERSİZİN DİRENÇ  
DAMARLARINDA KARBONMONOKSİT  
YOLAĞINA ETKİSİ**

**Seher ÜLKER**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Ümit Kemal ŞENTÜRK**

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi  
Tarafından Desteklenmiştir (Proje No: 2009.02.0122.013)

‘Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir’

**Antalya, 2011**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;**

Bu çalışma jürimiz tarafından Fizyoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 06/07/2011

**Tez Danışmanı:** Prof. Dr. Ümit Kemal ŞENTÜRK  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Fizyoloji Anabilim Dalı

**Üye:** Prof. Dr. Aysel AĞAR  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Fizyoloji Anabilim Dalı

**Üye:** Prof. Dr. Sadi ÖZDEM  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Farmakoloji Anabilim Dalı

**Üye:** Prof. Dr. Aytül Belgi YILDIRIM  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Kardiyoloji Anabilim Dalı

**Üye:** Doç. Dr Filiz GÜNDÜZ  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Fizyoloji Anabilim Dalı

**ONAY:**

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../2011 tarih ve ...../..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL**

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Endotelial disfonksiyon ve buna bağılı olarak nitrik oksit (NO) yetmezliğı hipertansiyonun başlangıcında ve gelişiminde önemli rol oynar. Kendiliğinden hipertansif sıçanlarda nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin daha az bulunduğı ve NO üretiminin daha düşük olduğı gösterilmiştir. NOS enziminin kronik inhibisyonu sonucu oluşturulan hipertansiyon modeli ise diğere hipertansiyon modelleri arasında yerini almıştır. Karbonmonoksit (CO) son yıllarda vasküler tonusa katkısı, fonksiyonları ve NO'ya benzerlikleri açısından üzerinde durulan gevşetici mediyatörlerden biridir. NO üretiminin azaldığı veya olmadığı koşullar altında CO kompensatuar etki gösterebilmektedir. Düzenli fiziksel aktivitenin kan basıncını düşürücü etkisi çeşitli deneysel hipertansiyon modellerinde gösterilmiştir. NOS enziminin inhibisyonuna dayalı hipertansiyon modelinde egzersizin kan basıncını anlamlı düzeyde düşürdüğü bizim laboratuvarımızda da gösterilmiştir. Düzenli egzersizler sonucu oluşan vasküler düzenlemelerde hemoksijenaz/ karbonmonoksit (HO/CO) sistemi de etkilenmektedir. Fakat NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde egzersizin vasküler dokularda HO/CO sistemine etkisi bilinmemektedir. Bu verilerden yola çıkarak bu çalışmada düzenli yüzme egzersizinin normotansif ve hipertansif sıçanların vasküler dokularındaki HO/CO sistemine etkisi araştırıldı. Bu amaçla hayvanlar kontrol, egzersiz, hipertansif ve hipertansif egzersiz olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Hipertansiyon, seçici olmayan NOS enzim inhibitörünün [N $\omega$ -nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) 25 mg.kg<sup>-1</sup>.gün<sup>-1</sup>] hayvanların içme suyuna ilavesiyle oluşturuldu ve 6 hafta boyunca sürdürüldü. Egzersiz gruplarında antrenman protokolü hipertansiyonla eşzamanlı olarak haftada 5 gün, günde 1 saat yüzme olarak uygulandı. Tüm grupların kan basıncı periyodik olarak invaziv olmayan tail cuff yöntemle kuyruktan ölçülerek takip edildi. Çalışmanın sonunda gastroknemius kası direnç ve mezenter yatak direnç damarları telli miyografa, torasik aort halkaları ise organ banyosu düzeneğine alınarak CO'nun endojen ve ekzojen damar yanıtları incelendi. Sıçanların antrene olduklarını kanıtlamak için vastus lateralis kasının kırmızı kas liflerinde sitrat sentaz enzim aktivitesi ölçüldü. Ayrıca izole edilen damarlardan HO-1 ve HO-2 enzim ekspresyonu da Western blot analiziyle saptandı. Deneysel sonundaki kan basıncı değerleri her iki hipertansif grupta kontrole göre yüksek bulunurken, hipertansif egzersiz grubunda hipertansif gruba göre önemli ölçüde kan basıncının düştüğü gözlemlendi. Sitrat sentaz enzim aktivitesi egzersiz ve hipertansif egzersiz grubta kontrollerine kıyasla anlamlı şekilde yüksekti. Damar segmentlerinin endojen CO gevşeme yanıtları egzersiz yapan kontrol sıçanlarda torasik aortadaki artışın dışında gruplar arasında fark göstermedi. Torasik aorta HO-1 ekspresyonu her iki egzersiz grubunda anlamlı yüksekti. Ekzojen CO'ya verilen gevşeme yanıtlarında gruplar arasında fark yoktu. Torasik aortada CO etkisini hem sGC hem de K<sup>+</sup> kanalları aracılığıyla gösterirken gastroknemius ve mezenter direnç damarlarında K<sup>+</sup> kanalları ile gösterdi. Araştırmamızın sonuçlarına göre NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde düzenli fiziksel aktivitenin damar gevşeme yanıtlarına olumlu etkisinin saptanamaması bu modelde HO/CO sisteminin kompensatuar olarak iş görmediğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** hipertansiyon, L-NAME, egzersiz, karbonmonoksit, hemoksijenaz, nitrik oksit, nitrik oksit sentaz, miyograf

## ABSTRACT

Endothelial dysfunction and nitric oxide (NO) deficiency play an important role in emergence and development of hypertension. It has been reported that spontaneously hypertensive rats feature less nitric oxide synthase (NOS) enzyme and reduced NO generation. Chronic inhibition of NOS enzyme in rats has become an animal model of hypertension beside others. Carbon monoxide (CO) is one of the relaxing mediators that have been highlighted in respect of its contribution to vascular tonus, functions and similarities to NO. CO may show a compensatory effect under the conditions in which NO production is reduced or not present. The blood pressure reducing effect of regular physical activity has been demonstrated in various experimental hypertension models. It has also been demonstrated in our laboratory that exercises during hypertension based on chronic NOS inhibition, reduce blood pressure significantly. In vascular arrangements that occur as a result of regular exercise, heme oxygenase/carbon monoxide (HO/CO) system is also affected. However, in hypertension model with NOS inhibition, the effect of the exercise to HO/CO system in vascular tissues is not known. Based on these data, the effect of regular swimming exercise on HO/CO system in the vascular tissues of normotensive and hypertensive rats was studied. For this purpose, animals were divided into 4 groups as control, exercise, hypertensive and hypertensive exercise. Hypertension was induced by oral administration of a non-selective NO synthase inhibitor [N $\omega$ -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), 25 mg.kg<sup>-1</sup>.day<sup>-1</sup>] dissolved in drinking water of animals, for a period of 6 consecutive weeks. Training protocol in exercise groups was performed as swimming for 1 hour daily and 5 days in a week, concomitantly with hypertension in exercising hypertensive group. Blood pressure of all groups was measured periodically by a non-invasive tail cuff method. Endogenous and exogenous responses of CO were examined in isolated preparations of gastrocnemius resistance and mesentery resistance arteries mounted to a wired myograph, and thoracic aorta rings to organ bath equipment. In order to prove that rats were trained, citrate synthase enzyme activity was measured in red muscle fibers of vastus lateralis muscle. Furthermore, HO-1 and HO-2 expression in isolated arteries were determined by Western blot analysis. While blood pressure values were found to be high in both hypertensive groups compared to control group at the end of the examination, it was observed that blood pressure declined significantly in hypertensive exercise group compared to hypertensive group. Citrate synthase enzyme activity increased significantly in exercise and hypertensive exercise groups compared to their control groups. Endogenous CO relaxation responses of vessel rings were not different between the groups apart from the increase in thoracic aorta in control rats that performed exercise. Thoracic aorta HO-1 expression was significantly higher in both exercise groups. There was no difference between the groups in vasodilation in responses to exogenous CO in vessel rings. While CO demonstrated its effect in thoracic aorta by means of both sGC and K<sup>+</sup> channels, it did so by means of K<sup>+</sup> channels in gastrocnemius and mesentery resistance arteries. According to the results of our study, the lack of a positive effect of regular physical activity on relaxation responses in NOS inhibition hypertension model proves that HO/CO system does not function in compensatory manner in this hypertension model.

**Key words:** hypertension, L-NAME, exercise, carbon monoxide, hemeoxygenase, nitric oxide, nitric oxide synthase, myograph

## TEŞEKKÜR

Tez alıőamalarım sűresince űstűn bilgi birikimlerini ve deneyimlerini benden esirgemeyen danıőman hocam sayın Prof. Dr. Ŭmit Kemal ŐENTŬRK'e, yűksek lisans eęitimim esnasında tűm katkılarından dolayı anabilim dalımızın deęerli hocalarına, her konuda yardımlarını esirgemeyen Arő. Gör. Gűnnur KOÇER'e ve beraber çalıőtıęım araőtırma gűrevlisi arkadaőlarım, manevi desteklerini hep yanımda hissettięim ailem ve sevgili eőim Erdem ŬLKER'e sonsuz saygı ve őűkranlarımı sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ÖZET</b>	iv
<b>ABSTRACT</b>	v
<b>TEŞEKKÜR</b>	vi
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	vii
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	ix
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	x
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	xi
<b>GİRİŞ</b>	1
<b>GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Hipertansiyon	3
2.1.1. Hipertansiyonun Tanımı ve Sınıflandırılması	3
2.1.2. Hipertansiyonun Epidemiyolojisi	4
2.1.3. Hipertansiyonun Etiyolojisi ve Etiyolojik Sınıflandırması	4
2.1.4. Egzersiz ve Hipertansiyon	5
2.1.5. Deneysel Hipertansiyon Modelleri	7
2.1.6. NOS Blokajıyla Oluşan Hipertansiyon Modeli	8
2.1.7. Egzersiz ve Hipertansif Sıçanlar	9
2.2. Karbonmonoksit	11
2.2.1. Karbonmonoksitin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	11
2.2.2. Endojen Karbonmonoksit Üretimi	11
2.2.3. Hemoksijenazlar	13
2.2.4. Hemokijenaz Uyaranları	14
2.2.5. Karbonmonoksitin Etki Mekanizması	15
2.2.6. Karbonmonoksitin Fonksiyonları	16
2.2.7. Karbonmonoksit ve Nitrik Oksit Etkileşimi	19
2.3. Karbonmonoksit ve Hipertansiyon	20
2.4. Karbonmonoksit ve Egzersiz	21
2.5. Amaç ve Hipotez	22
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b>	24
3.1. Egzersiz Protokolü	24
3.2. Hipertansiyonun Oluşturulması	24
3.3. Kan Basıncı Ölçümü	25
3.4. Deneyin Sonlandırılması	25
3.4.1. Telli Miyograf ve Organ Banyosu Çalışması	26
3.5. Sitrat Sentaz Aktivitesi Ölçümü	28

3.5.1.	Doku Örneklerinin Hazırlanması	28
3.5.2.	Doku Örneklerinin Çalışılması	28
3.6.	Western Blot Analizi	28
3.6.1.	Doku Örneklerinin Hazırlanması	28
3.6.2.	Elektroforez ve Blotlama İşlemleri	29
3.6.3.	Görüntüleme ve Değerlendirme	29
3.7.	Verilerin Değerlendirilmesi	29
<b>BULGULAR</b>		<b>30</b>
4.1.	Vücut Ağırlığı ve Su Tüketimi	30
4.2.	Kan Basıncı	30
4.3.	Sitrat Sentaz Aktivitesi	31
4.4.	Torasik Aort Yanıtları	31
4.4.1.	Torasik Aort'un Endojen CO Yanıtları	31
4.4.2.	Torasik Aort'un Ekzojen CO Yanıtları	33
4.4.3.	Torasik Aort Damarlarında HO-1 ve HO-2 Ekspresyonu	34
4.5.	Gastrokinemius Direnç Damarları Yanıtları	35
4.5.1.	Gastrokinemius Direnç Damarlarının Endojen CO Yanıtları	35
4.5.2.	Gastrokinemius Direnç Damarlarının Ekzojen CO Yanıtları	36
4.5.3.	Gastrokinemius Direnç Damarlarında HO-1 ve HO-2 Ekspresyonu	37
4.6.	Mezenter Yatak Direnç Damarları Yanıtları	38
4.6.1.	Mezenter Yatak Direnç Damarlarının Endojen CO Yanıtları	38
4.6.2.	Mezenter Yatak Direnç Damarlarının Ekzojen CO Yanıtları	39
4.6.3.	Mezenter Yatak Direnç Damarlarında HO-1 ve HO-2 Ekspresyonu	40
<b>TARTIŞMA</b>		<b>42</b>
<b>SONUÇLAR</b>		<b>47</b>
<b>KAYNAKLAR</b>		<b>48</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>		<b>63</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ACh</b>	:	Asetilkolin
<b>Ang II</b>	:	Anjiotensin II
<b>CO</b>	:	Karbonmonoksit
<b>CORM</b>	:	Carbon monoxide-releasing molecule
<b>DKB</b>	:	Diyastolik kan basıncı
<b>DOCA</b>	:	Deoksikortikosteron asetat
<b>eNOS</b>	:	Endotelyal nitrik oksit sentaz
<b>ET-1</b>	:	Endotelin-1
<b>Fe</b>	:	Demir
<b>HO-1</b>	:	Hemoksijenaz-1
<b>HO-2</b>	:	Hemoksijenaz-2
<b>HO-3</b>	:	Hemoksijenaz-3
<b>HSP-32</b>	:	Heat shock protein-32
<b>JNC VII</b>	:	Joint National Committee VII
<b>L-NAME</b>	:	N $\omega$ -nitro-L-arginin metil ester
<b>L-NNA</b>	:	N-nitro-L-arginin
<b>MAPK</b>	:	Mitojen activated protein kinaz
<b>NADPH</b>	:	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
<b>NO</b>	:	Nitrik oksit
<b>NOS</b>	:	Nitrik oksit sentaz
<b>ODQ</b>	:	1H-[1,2,4]Oxadiazolo[4,3-a] quinox-alin-1-one
<b>Patent</b>	:	Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması
<b>Phe</b>	:	Fenilefrin
<b>sGC</b>	:	Çözünebilir guanilat siklaz
<b>sGMP</b>	:	Siklik guanozin monofosfat
<b>SHR</b>	:	Spontan hipertansif rat
<b>SKB</b>	:	Sistolik kan basıncı
<b>TEA</b>	:	Tetrahyllammonium
<b>TEKHARF</b>	:	Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri
<b>VO<sub>2</sub> MAX</b>	:	Maksimal oksijen kapasitesi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Enzimatik CO oluşumu	12
2.2. Vaküer düz kasta CO'nun etki mekanizması	18
4.1. Sistolik kan basıncı değerleri	30
4.2. Vastus lateralis kasında sitrat sentaz aktivitesi	31
4.3. Torasik aort halkalarının fenilefrin ( $10^{-9}$ – $3 \times 10^{-5}$ M) doz-cevap eğrileri	31
4.4. Torasik aort halkalarının maksimal kasılma yanıtları	32
4.5. Torasik aort halkalarının CORM ( $10^{-9}$ – $10^{-4}$ M) doz-cevap eğrileri ve maksimal gevşeme yanıtları	33
4.6. Torasik aort damarlarında HO-1 ekspresyonu	34
4.7. Torasik aort damarlarında HO-2 ekspresyonu	34
4.8. Gastrokinemius direnç damarlarının fenilefrin ( $10^{-9}$ – $3 \times 10^{-5}$ M) doz-cevap eğrileri	35
4.9. Gastrokinemius direnç damarlarının maksimal kasılma yanıtları	35
4.10. Gastrokinemius direnç damarlarının CORM ( $10^{-9}$ – $10^{-4}$ M) doz-cevap eğrileri ve maksimal gevşeme yanıtları	36
4.11. Gastrokinemius direnç damarlarında HO-1 ekspresyonu	37
4.12. Gastrokinemius direnç damarlarında HO-2 ekspresyonu	38
4.13. Mezenter yatak direnç damarlarının fenilefrin ( $10^{-9}$ – $3 \times 10^{-5}$ M) doz-cevap eğrileri	38
4.14. Mezenter yatak direnç damarlarının maksimal kasılma yanıtları	39
4.15. Mezenter yatak direnç damarlarının CORM ( $10^{-9}$ – $10^{-4}$ M) doz-cevap eğrileri ve maksimal gevşeme yanıtları	39
4.16. Mezenter yatak direnç damarlarında HO-1 ekspresyonu	41
4.17. Mezenter yatak direnç damarlarında HO-2 ekspresyonu	41

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b>	JNC VII. Raporuna göre 18 yaş ve üzeri erişkinlerde kan basıncı sınıflandırması	<b>3</b>
<b>2.2.</b>	CO'nun fiziksel özellikleri	<b>11</b>
<b>2.3.</b>	CO'nun farklı tür hayvanlarda vasküler etkileri	<b>18</b>
<b>4.1.</b>	Su tüketimi ve vücut ağırlıkları	<b>30</b>
<b>4.2.</b>	Torasik Aort halkalarının maksimal kasılma yanıtları	<b>32</b>
<b>4.3.</b>	Torasik Aort halkalarının maksimal yüzde gevşeme yanıtları	<b>34</b>
<b>4.4.</b>	Gastrokinemius direnç damarlarının maksimal kasılma yanıtları	<b>36</b>
<b>4.5.</b>	Gastrokinemius direnç damarlarının maksimal yüzde gevşeme yanıtları	<b>37</b>
<b>4.6.</b>	Mezenter yatak direnç damarlarının maksimal kasılma yanıtları	<b>39</b>
<b>4.7.</b>	Mezenter yatak direnç damarlarının maksimal yüzde gevşeme yanıtları	<b>40</b>

## GİRİŞ

Endotel kaynaklı nitrik oksit (NO), bilinen en güçlü endojen vazodilatördür ve dolaşım sisteminin önemli bir düzenleyicisidir. NO üretimi ve etkisini göstermedeki bozukluklar vasküler hastalıkların başlangıcında ve gelişiminde önemli rol oynar. NO'nun azalması veya eksikliği hipertansiyon oluşumuna katkıda bulunan etkenlerden biridir (1). Hipertansiyonun önemli hipotezlerinden biri haline gelen endotelial disfonksiyon ve buna bağlı olarak NO yetmezliği hem insan hem de hayvanlarda gösterilmiştir (2). Hipertansif ratlar asetilkolin aracılı endotel kaynaklı gevşemeye hem iletim hem de rezistans arterlerinde daha az gevşeme yanıtı verirler (3). Spontan hipertansif sıçanlarda (SHR) endotelial disfonksiyonun göstergelerinden biri olan nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin daha az bulunduğu ve NO üretiminin de daha düşük olduğu gösterilmiştir (3-4). NOS enziminin inhibisyonuna dayalı hipertansiyon modeli ise son yıllarda en sık kullanılan ve diğerlerine göre daha yeni ortaya konmuş bir modelidir. Bu model kardiyovasküler homeostaziste çok önemli bir yeri olan NO eksikliğine dayanır (5).

Karbonmonoksit (CO) son yıllarda vasküler tonusa katkısı ve fonksiyonları açısından, ayrıca NO'ya benzerlikleri bakımından üzerinde durulan gevşetici mediyatörlerden biridir (6). Hemoksijenaz (HO) enziminin hem molekülünü CO, biliverdin ve demire yıkması sonucu CO endojen oluştuğunda veya ekzojen olarak da verildiğinde, CO'nun pek çok dokudan izole edilen damarlarda gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir (7). CO, doğrudan vazodilatör etkisinin yanı sıra miyojenik uyarılara ve konstriktör agonistlere damar düz kasının duyarlılığını azaltarak da anti-hipertansif mekanizmalara katkıda bulunur (8-9). SHR'ın yanında anjiyotensin II (Ang II) ile uyarılmış hipertansiyon, bir böbrek-bir klip renovasküler hipertansiyon, portal hipertansiyon ve pulmoner hipertansiyon modellerinde hemoksijenaz (HO) aktivitesi ve/veya ekspresyonunun artması sonucu oluşan CO üretiminin artması önemli bir kompensatuar etki göstermektedir (10-11). HO'nun ekspresyonunun artarak CO'nun kompensatuar olarak etki gösterdiği hipertansiyon modellerinden biri de NOS inhibisyonu hipertansiyon modelidir. NOS-inhibisyonu sonucu torasik aort, sol ventrikül, böbrek ve çizgili kas dokularında HO-1 ve HO-2'nin mRNA'sının artmasının yanında siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyinin de arttığı gösterilmiştir (12). NO ve CO arasındaki ilişki birçok araştırmaya konu olan ve içinde çok çelişkili sonuçlar barındıran bir etkileşimdir. Bazı delillere göre CO, NO için bir yedekleme molekülü olarak görev yapabilmektedir (7, 10, 13).

Düzenli fiziksel aktivitenin hipertansif insanlardaki kan basıncını düşürücü etkisi 1950'li yıllardan beri bilinmektedir (14). Egzersizin bu olumlu etkisi çeşitli hayvanlarda uygulanan deneysel hipertansiyon modellerinde de gösterilmiştir (15-17). NOS inhibisyonu ile oluşturulan deneysel hipertansiyon modelinde hem koşu bandı hem de yüzme egzersizlerinin kan basıncını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü ilk olarak bizim laboratuvarımızda gösterilmiştir (18-20). Önceki

çalışmalarımızın sonuçları, egzersizin NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde kan basıncını düşürücü etkisinin mekanizmasında çizgili kas NOS aktivitesinde artış ve damar duvarındaki olumlu yapısal değişiklikler yanında çizgili kas direnç damarlarının kimyasal (asetilkolin) ve fiziksel uyaranlara karşı (kan akımı artışı, shear stress) daha fazla gevşeme yanıtı verdiğini göstermiştir (18, 20).

Düzenli egzersizler sonucu oluşan vasküler düzenlemelerde HO/CO sistemi de etkilenmektedir. Koşu bandı egzersizi sonucu normotansif sıçanlarda aort HO-1 ve HO-2 proteinlerinin ekspresyonu ve HO'nun aracılık ettiği gevşemenin arttığı gösterilmiştir (21). Düzenli fiziksel aktivite yapan spontan hipertansif sıçanlarda ise ekzojen CO'ya verilen gevşeme yanıtı artmakta ve bu durum  $K^+$  kanallarına bağlanmaktadır (22). Ancak düzenli fiziksel aktivitenin NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinde HO/CO sistemine etkisi bilinmemektedir.

Bu çalışmanın amacı NOS inhibisyonu ile hipertansif hale getirilen sıçanlarda düzenli fiziksel aktivite sonrası vasküler dokuda görülen gevşeme yanıtlarının düzelmesinde CO'nun rolünü ortaya koymaktır. Bu amaçla N $\omega$ -nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) ile hipertansif hale getirilen sıçanlarda yüzme egzersizi sonrası torasik aorta, gastroknemius kası direnç arteri ve mezenter yatak direnç arterlerinin damar tonusuna CO'nun katkısı ve CO üretiminden sorumlu olan HO-1 ve HO-2 enzimlerinin protein düzeyi araştırılmıştır. Hem CO'nun, NO için bir yedekleme molekülü olabilmesi hem de HO/CO sisteminin egzersizle up-regüle olabilmesinden dolayı, damar yanıtlarında CO'nun gevşetici etkisinin NOS-inhibisyonlu hipertansif sıçanlarda düzenli yüzme egzersizi sonucu artmasını beklemekteyiz.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hipertansiyon

#### 2.1.1. Hipertansiyonun Tanımı ve Sınıflandırılması

Kan basıncı kalbin kanı sistemik dolaşıma pompalaması sırasında arteriyel sisteme giren kanın arterler üzerinde oluşturduğu basıncı anlatır ve "Kan basıncı = kardiyak atım x periferik vasküler direnç" formülü ile ifade edilir. Sistemik arteriyel kan basıncının normal sayılan sınırların üzerinde seyretmesine hipertansiyon denir (23-24).

Kan basıncı sistolik (büyük tansiyon) ve diyastolik (küçük tansiyon) olarak iki değerden oluşur. İnsanlarda kabul edilen normal kan basıncı değerleri sistolik kan basıncı (SKB) için 120 mmHg ve diyastolik kan basıncı (DKB) için 80 mmHg'dır. Diğer yönden SKB için 140 mmHg'dan, DKB için de 90 mmHg'dan yüksek değerler yüksek kan basıncı değerleri olarak kabul edilir. Hem SKB hem de DKB'nin arttığı durum kombine hipertansiyon olarak tanımlanırken, DKB'nin 90 mmHg altında olduğu fakat sadece SKB'nin yüksek olduğu (SKB>140 mmHg) duruma ise izole sistolik hipertansiyon denir (25).

Erişkinlerde kan basıncı derecesinin sınıflandırılması nitel olmakla birlikte, pratikte hekimlerin tedaviye yaklaşımına kolaylık sağlamak için kan basıncı derecelerinin dikkate alınması yararlıdır. Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Birleşik Komite (JNC, Joint National Committee) VII. Raporu'nda 18 yaş ve üzeri erişkinlerde kan basıncı dört sınıfa ayrılmıştır (Tablo 2.1). Bu sınıflandırma anti-hipertansif ilaç almayan ve akut olarak hasta olmayanlar için kullanılır. Sınıflandırmada kullanılan kan basıncı değerleri, ölçme tekniklerine uygun olarak en az iki farklı muayenede alınan iki ölçüm sonucunun ortalamasıdır. Sistolik ve diyastolik kan basınçları farklı sınıflara düşerse, kişinin kan basıncı durumunu değerlendirmek için daha yüksek olan kan basıncı derecesi dikkate alınmaktadır (26).

**Tablo 2.1.** JNC VII. Raporuna göre 18 yaş ve üzeri erişkinlerde kan basıncı sınıflandırması

Sınıf	SKB(mmHg)	DKB(mmHg)
Normal	<120	<80
Prehipertansiyon	120-139	80-89
Evre 1 Hipertansiyon	140-159	90-99
Evre 2 Hipertansiyon	≥160	≥100

### 2.1.2. Hipertansiyonun Epidemiyolojisi

Hipertansiyon, insanların çoğunun yaşamlarının bir sürecinde karşı karşıya kaldıkları tıbbi ve toplumsal önemi giderek artan bir hastalık haline gelmektedir. Hipertansiyon ülkeden ülkeye prevalansı değişmekle birlikte tüm dünyada morbidite ve mortalite nedenleri arasında en önde gelen sorunlardan biridir. 2000 yılında dünyada erişkin nüfusun % 26,4'ünde (erkeklerde %26,6 ve kadınlarda %26,1) hipertansiyon bulunmaktadır ve bu oranın 2025 yılı itibariyle % 29,2'ye çıkacağı öngörülmektedir (27). Dünyada yaklaşık olarak 1 milyar kişinin hipertansiyon hastası olduğu ve yılda 7,1 milyon kişinin hipertansiyon ve hipertansiyona bağlı sebeplerden öldüğü tahmin edilmektedir (28).

Hipertansiyon her yaşta görülen bir hastalık olmasına rağmen toplumlara ve toplumdaki yaş gruplarına göre görülme sıklığı farklıdır. Yaşla birlikte hipertansiyon prevalansı artmaktadır. Buna göre 40 yaşın üzerindeki bireyler için hipertansiyon sıklığı %15'in civarındayken, 65 yaşından sonra %20 değerini aşar. Erkekler için hipertansiyon riski kadınlara göre daha fazladır. Fakat hipertansiyon ileri yaştaki kadınlarda, aynı yaştaki erkeklere göre daha önemli bir sağlık sorunu olarak görülür. Ayrıca siyah ırktaki insanlarda, hipertansiyonun görülme sıklığı diğer toplumların yaklaşık olarak iki katıdır (29). 65 yaşında hipertansiyonu olmayan kişilerin sonraki 20 yıl içinde hipertansiyona yakalanma riski %90'ın üzerindedir (30).

Ülkemizde yapılan TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri) çalışması ile 2003-2004 yaz aylarında 2267 kişinin izlendiği kohort araştırmasında kan basıncı değişimleri açısından cinsiyet ve yaş katmanları göz önüne alınmıştır. Kohortun 33 yaşını aşkın katılımcılardan anti-hipertansif ilaç kullanan ya da kan basıncı >140 ve/veya 90 mmHg olanların prevalansı erkeklerde %38, kadınlarda ise %46 bulunmuştur. Buna göre, ülkemizde halen 5.2 milyon erkek ile 6.6 milyon kadında hipertansiyonun var olduğu tahmin edilmektedir (31). Ülkemizde yapılan bir diğer çalışma ise Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği'nin 2003-2004 yılları arasında yaptığı PatenT (Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması, Prevalence, awareness and treatment of hypertension in Turkey) çalışmasıdır. Bu çalışma Türkiye'de 7 bölge ve 26 ilde, 18 yaş üzeri 4910 kişi ile yapılmış olup, hipertansiyon prevalansı % 31,8 bulunmuştur. PatenT çalışmasında hipertansiyon prevalansı kadınlarda % 36,1 iken erkeklerde % 27,7 olarak saptanmıştır. Hipertansiyonlu bireylerin sadece % 40,7'sinin hastalıklarının farkında olduğu, hastaların sadece % 31,1'inin anti-hipertansif tedavi aldığı, tedavi alanların ise sadece % 20,7'sinde kan basıncının kontrol altında olduğu tespit edilmiştir (32).

### 2.1.3. Hipertansiyonun Etiyolojisi ve Etiyolojik Sınıflandırması

Hipertansiyon bir çeşit kan basıncı düzenlenmesi bozukluğudur ve birçok nedenden dolayı ortaya çıkar. Hipertansiyonun etiyopatolojisi hakkındaki bilgiler hala tam olarak netleşmemiştir. Bununla beraber kan basıncı yüksekliği temelde primer ve sekonder hipertansiyon olarak ikiye ayrılır. Hipertansiyon olgularının yaklaşık %95'nin nedeni tam olarak bilinmez. Bu tip hipertansiyona 'primer' veya 'idiyopatik' veya en sık kullanılan terimle 'esansiyel hipertansiyon' da denilmektedir (33). Kan basıncının oluşmasını sağlayan iki ana komponentten birincisi kalbin pompalama gücü, ikincisi ise periferik arter direncidir. Bu komponentlere birçok faktörün katkısının olduğu bilinmektedir. Bu iki ana komponentin birisinde veya her

ikisinde oluşan patolojiler hipertansiyona neden olmaktadır (25). Primer hipertansiyonun patogenizinde rol oynadığı ileri sürülen bazı faktörler şunlardır (25, 29, 34-36).

- Genetik faktörler
- Fazla sodyum alımı, renal sodyum atılımında defekt
- Periferik direnç artışı
- Kalp debisi artışı
- Obezite
- İnsülin direnci ve hiperinsülinemi
- Renin-anjiyotensin sisteminin rolü
- Stress ve aşırı sempatik aktivite
- Hücre zarı değişiklikleri
- Endotelial disfonksiyon
- Serbest oksijen radikalleri
- Olası diğer mekanizmalar

Sekonder hipertansiyon ise belirli bir nedene bağlı olarak gelişen hipertansiyondur ve mevcut olguların %5'i bu gruptadır. Bu durumda sekonder hipertansiyon başka bir hastalığa ikincil olarak gelişen kan basıncı artışıdır. Başlıca nedenleri arasında renal, kalp, endokrin, nörolojik ve vasküler anomaliler sayılabilir. Neden olan hastalık tedavi edildiğinde hipertansiyon düzelebilir. Hipertansiyon hikayesi bulunmayan erişkinlerde veya gençlerde ayrıca anti-hipertansif tedaviye zayıf cevap veren hipertansiyonlu bireylerde kan basıncındaki artış sekonder hipertansiyon ihtimalini güçlendirmektedir (37).

Günümüzde hipertansiyon tedavisinde çok çeşitli ve yararlı ilaçlar yaygın olarak kullanılmakla birlikte, hastanın beslenmesi ve yaşam tarzı ile ilgili gerekli önlemler alınmalıdır. Buradaki amaç kan basıncını düşürmek, diğer risk faktörlerini ve klinik durumları kontrol altına almak ve daha sonradan kullanılması gerekebilecek anti-hipertansif ilaç sayısı ve dozunu azaltmaktır. Kan basıncını veya kardiyovasküler riski düşüren yaşam tarzı önlemleri şunlardır; sigarayı bırakmak, fazla kilolu bireylerde kilo vermek, alkol tüketimini azaltmak, tuz alımını azaltmak, meyve ve sebze tüketimini arttırmak ve doymuş ve toplam yağ alımını azaltmak (38-39). Kan basıncının düşmesine katkıda bulunan önemli bir faktör ise düzenli yapılan egzersizdir. Egzersiz ile birlikte yaşam biçiminde yapılan değişiklikler, hipertansiyonun kontrolünde koruyucu etkiye sahiptir.

#### **2.1.4 Egzersiz ve Hipertansiyon**

Yüksek prevalansı ve yol açtığı morbitide ve mortalite riski artışına bağlı olarak, hipertansiyon bütün dünyadaki en önemli sağlık sorunlarından biri olarak kabul edilmektedir. Yaşla birlikte hipertansiyonun görülme sıklığındaki artıştan sorumlu en önemli nedenlerden biri sedanter yaşamdır. Uzun ve sağlıklı bir yaşam sürmek için egzersizin önemi her geçen gün daha iyi anlaşılmaktadır.

Hipertansiyon ve yaşam tarzı arasındaki ilişki uzun zamandan beri bilinmektedir. Yapılan gözlemsel ve deneysel çalışmalar sonucunda, bu ilişkinin



önemi ve altında yatan mekanizmaları büyük ölçüde anlaşılmıştır (40). Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda fiziksel aktivite ve hipertansiyon arasındaki zıt ilişki gösterilmiştir. Ayrıca klinik çalışmalar egzersizin yüksek kan basıncını düşürücü etkisini doğrulamaktadır. 1990'lı yılların sonunda da JNC'nin (Joint National Committee of the USA) açıklamalarına göre hipertansiyonda korunma ve tedavi için artmış fiziksel aktivite özellikle tavsiye edilmektedir (41). Benzer açıklamalar Dünya Sağlık Örgütü ve Amerika Birleşik Devletlerindeki başka sağlık kuruluşları tarafından yayınlanmış olup hipertansiyon tedavisinde egzersizin olumlu etkilerine değinilmiştir (14, 42-44). Başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere pek çok sistemik hastalığa ait risk faktörleri hipertansif kişilerde normotansif olanlara göre anlamlı şekilde yüksektir. Egzersizin kan basıncını düşürmesinin yanında kardiyovasküler komplikasyon riskini azaltan yararlı etkileri de mevcuttur. Sedanter yaşam süren bireylerde hipertansiyon gelişme riski, düzenli egzersiz yapan bireylere oranla %20-50 daha fazladır (45). Pek çok hastalıkta olduğu gibi hipertansiyonda da yaşam biçimindeki olumlu değişiklikler hastalığın önlenmesinde ve tedavisinde önemli ölçüde yarar sağlamaktadır. Hipertansiyon tedavisinin ömür boyu süren bir tedavi olduğu göz önüne alınırsa, hipertansiyon ve yarattığı komplikasyonların tedavisi için harcanan paralar azımsanamayacak kadar çoktur (46). Bundan dolayı hipertansiyonun ilaçsız tedavisine verilen önem gün geçtikçe artmaktadır.

**Egzersizin Anti-hipertansif Etkisi.** Egzersiz ile birlikte yaşam biçimi değişiklikleri hipertansiyonun kontrolünde, tedavisinde ve hipertansiyondan korunmada tamamlayıcı bir etkiye sahiptir. Egzersizin kan basıncını düşürücü etkisi için önerilen mekanizmalar nörohumoral, vasküler ve yapısal adaptasyonları kapsar. Katekolominlerde ve total periferik dirençte düşüş, düzelmiş insülin direnci, vazodilatör ve vazokonstriktörlerdeki değişiklikler egzersizin anti-hipertansif etkisi için varsayılan bazı açıklamalardır. Egzersizin kan basıncını düşürücü kapasitesini optimize etmek için; egzersizin şiddeti, tipi, sıklığı ve süresi özellikle çocuklarda, kadınlarda, yaşlılarda ve hatta etnik gruplarda bile çok iyi şekilde belirlenmelidir (47).

1986'dan beri hipertansiyon için tavsiye edilen egzersiz reçeteleri daha gelişmiş haldedir. Egzersizin kan basıncını düşürücü etkisinin uygulanan egzersizin bazı özellikleri ile yakından bağlantısı olduğu söylenebilir. Bu özellikler şu şekilde belirtilebilir (48):

Tipi : Kardiyorespiratör egzersiz  
Sıklığı : Haftada 3-5 kez  
Süresi : 40-60 dakika  
Şiddeti: Maksimal fiziksel iş kapasitesinin %40-70

Egzersizin temel olarak dinamik (izotonik) ve statik (izometrik) olmak üzere iki çeşidi vardır. Bunlarda kendi içinde aerobik ve anaerobik olarak ayrılır. Düzenli izotonik egzersiz yapan hipertansif bireylerin kan basınçlarında düşüş olmakla beraber, izometrik veya ağır egzersiz hipertansiyon için uygun bulunmamaktadır (42).

Fiziksel aktivite sırasında aynı anda mümkün olduğu kadar fazla kas ve kas grubunu çalıştıran yürüme, koşma, bisiklet, yüzmeye gibi dinamik egzersiz türlerinin hipertansif hastalarda anlamlı kan basıncı düşüşlerine neden olduğu bilinmektedir (14, 42, 49).

Aerobik egzersizin faydalı olabilmesi için şiddetinin eşik düzeyin üzerinde olması gerekir. Yapılan çalışmalarda, uygulanan fiziksel aktivite şiddetinin, kanda laktat birikim eşliğinin altında olması gerektiği vurgulanmakta ve genellikle maksimal oksijen kapasitenin ( $VO_2 \text{ MAX}$ ) %40'ı ile %70'i arasında değişen ağırlıktaki aerobik egzersiz uygulamaları önerilmektedir (42, 50-51). Ağır şiddetteki egzersizlerin kan basınçlarını düşürmediği, ayrıca şiddetli egzersiz sırasında ortaya çıkabilen kan basıncı artışlarının zararlı olabileceği belirtilmektedir.

Egzersizin kan basıncını düşürücü etkisinde önemli olduğu kabul edilen diğer faktörler, egzersizin uygulanma sıklığı ve süresidir. Egzersizin haftada 3-5 gün arasında yapılmasının tansiyonun düşürülmesinde etkili olduğu belirlenmiştir (52-53). Fakat sınırlı sayıdaki bazı çalışmalar haftada 7 seans egzersiz uygulamasının 3 seans yapılandıktan daha etkili olduğunu belirtmektedir (54-55). Kan basıncını düşürmeye yönelik yapılan egzersiz çalışmalarında, günlük ısınma ve soğuma egzersizleri hariç aralıklı veya devamlı toplamda 30-60 dakikalık egzersizler önerilmektedir (47).

### 2.1.5. Deneysel Hipertansiyon Modelleri

Günümüzde yaygın bir sağlık problemi olan hipertansiyon ve hipertansiyona bağlı komplikasyonların birçok ülkede etkilediği populasyon yüzdesi ve uzun vadedeki mortalite ve morbiditeye etkisi göz önüne alındığında, hipertansiyon üzerine yapılan çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Hipertansiyonun mekanizmasını ve gereken tedavisini aydınlatmak amacıyla çeşitli yaklaşımlar uygulanmaktadır.

Hipertansiyon ile ilgili araştırmalarda yüksek kan basıncı değerleri olan insanların yanı sıra daha detaylı girişimsel araştırmaların yapılabilmesi için deney hayvanlarından da sıklıkla yararlanılmaktadır. Bu tür çalışmalarda insandaki esansiyel hipertansiyonun karşılığı olan kendiliğinden hipertansif sıçanlar (spontan hipertansif sıçanlar, SHR) veya çeşitli girişimsel yollarla oluşturulan deneysel hipertansif modeller kullanılmaktadır. Bu tezin konusu olan NOS inhibisyonu hipertansiyon modeli 2.1.6 nolu alt başlıkta ayrıntılı olarak incelenmiştir.

**Spontan hipertansif ratlar.** Bu hayvanlar normalin üzerinde kan basıncı değerlerine sahip sıçanların en az birkaç nesil boyunca kendi aralarında çiftleştirilmesiyle elde edilir. Bir aydan fazla sürede sistolik kan basınçları devamlı 150 mmHg'nın üzerinde seyrettiği takdirde spontan hipertansiyon tanımlanır (56). İlk bir iki haftada sistolik kan basınçları 100-120 mmHg arasındadır ve sonrasında 12-14 haftanın üzerine hipertansiyon gelişir (56). Genetik predispozisyon nedeniyle sıçanlardaki kendiliğinden gelişen bu hipertansiyon, insanlardaki esansiyel hipertansiyon oluşumunu andırır.

**Dahl-Tuz Hipertansiyon Modeli.** Dahl ve arkadaşları tarafından, genetik özellikleri farklı tuza dirençli ve tuza duyarlı iki ayrı sıçan soyu geliştirilmiştir. Tuza

duyarlı olan sıçanlarda normalin üzerinde tuz alımı hipertansiyon oluşumunu uyarır (57-58).

**DOCA-Tuz Hipertansiyon Modeli.** DOCA-tuz hipertansiyonu farmakolojik olarak oluşturulan hipertansiyon modelidir. Tek böbreği alınmış sıçanlara iyileşme sürecini takiben cilt altından periyodik olarak DOCA'nın (deoxycorticosterone-Acetate) enjeksiyonu ve içme suyu olarak %1'lik sodyum klorür çözeltisi verilmesi kaydıyla hayvanların kan basıncında artış gözlenir (59). Bu deneysel hipertansiyon modelinin en büyük avantajı hipertansiyonun gelişim evreleri sırasında tuzun oynadığı rolün araştırılmasında önemli yarar sağlamasıdır (60).

**Renal Hipertansiyon Modelleri.** Sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılan diğer bir yöntem böbrek arterlerinin gümüş klipslerle daraltıldığı Goldblatt hipertansiyon modelidir. Hayvanın iki böbreği de sağlamken tek böbrekteki renal arter gümüş klipsle daraltılırsa "iki böbrek bir klips" deney modeli olarak adlandırılır (61). Şayet hayvanın bir böbreği alındıktan sonra diğer böbreğe giren renal arter gümüş klips yardımıyla daraltılırsa "bir böbrek bir klips" deney modeli oluşturulur ve her iki modelde de kan basıncı artar (60, 62)

#### **2.1.6. NOS Blokajıyla Oluşan Hipertansiyon Modeli**

1992 yılında iki farklı araştırma grubunun yapmış olduğu çalışmaya göre kronik olarak oral NOS inhibitörü uygulamasının hipertansiyona neden olduğu gösterilmiştir ve bu uygulamanın arteriyel hipertansiyon modeli olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir (5). Hayvanlara NOS inhibitörünün yüksek dozlarda verilmesi daha ağır hipertansiyona yol açarken ilerleyen dönemlerde böbrek hasarına da neden olmaktadır (5, 63). Periferik arteriyel direncin artışı ile NO arasında bir ilişkinin olduğu ve kan basıncının uzun vadede düzenlenmesinde NO'nun katkısı bilinmektedir (64-65). NOS enziminin kronik olarak inhibisyonu ile periferik arteriyel direnç artışı ve dolayısıyla sistemik hipertansiyon gelişimi saptanmıştır (65-66).

NG-nitro-L-Arjinin (L-NNA), L-NAME gibi L-arjinin analoglarının uygulanmasıyla NOS enzimlerinin kronik kompetitif inhibisyonu sağlanır ve bunun sonucunda arteriyel kan basıncı artar (1). L-NAME, esterazlarla L-NNA'ya metabolize olur ve dokulara bu şekilde geçer (67). Bir L-arginin analogu olan L-NAME sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılan ilk NOS inhibitörüdür (5, 68-69). L-NAME'in suda çözünbilmesi ve içme suyuyla birlikte hayvanlara verilebilmesi, bu modelin kolaylıkla ve yaygın olarak kullanımına yol açar. Sıçanlarda L-NAME'nin intraperitoneal enjeksiyonu da hipertansiyon oluşturmak için kullanılan diğer bir uygulamadır (70).

Kronik NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyonun gelişimine katkısı olduğu ileri sürülen mekanizmalar arasında total periferik direnç artışı, sempatik sistem aktivasyonu, çeşitli vazoaaktif maddeler ve artmış renal sodyum tutulumu sayılmaktadır (5, 71). Yüksek doz L-NAME ve L-NNA uygulaması ile yapılan uzun süreli NOS inhibisyonunda dokularda hasar oluşmakla birlikte böbreklerde tübüler nekroz ve glomeruloskleroz, damarlarda media tabakasında kalınlaşma ve kalpte fokal nekroz odakları oluşabilmektedir (5). Mevcut veriler ışığında düşük doz NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyondan esasen sodyum tutulumunun, yüksek

doz NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyondan ise total periferik direnç artışının sorumlu olduğu kabul edilmektedir (72).

Deneysel L-NAME hipertansiyon modelinin uygulandığı sıçan çalışmalarında, bu inhibitörün değişen dozlardaki ve uygulama sürelerindeki etkisi incelendiğinde farklı kan basıncı artışları gözlenmiştir (1, 69, 73). Farklı soylardaki sıçanlara aynı dozda L-NAME uygulanmasının kan basıncı artışının düzeyini değiştirdiği belirtilmektedir (68).

### 2.1.7. Egzersiz ve Hipertansif Sıçanlar

Egzersizin kan basıncını düşürdüğü hem insanlarda hem de deneysel hayvan modellerinde birçok çalışmada araştırılmıştır. Egzersizin deneysel olarak hipertansif hale getirilen ratlar üzerine etkisi farklılık gösterdiği için ayrı ayrı ele almak gerekir.

**Spontan Hipertansif Sıçanlar.** Spontan hipertansif sıçanlar insanlarda ki esansiyel hipertansiyonun etkisini araştırmak için kullanılan ve hipertansiyon çalışmalarında en çok tercih edilen hipertansif sıçan modelidir. (74). SHR'da egzersizin etkisinin incelendiği 18 çalışmanın meta analiz sonuçlarına göre; pre-hipertansif veya hipertansiyonun erken döneminde egzersize başlayan SHR'da kan basıncında düşüş gözlenirken, egzersiz yapan yaşlı sıçanlarda böyle bir etki görülmemiştir. Kısa süreli yapılan egzersizin kan basıncını düşürdüğü fakat bu düşüşün egzersizin süresi uzadığında kaybolduğu belirtilmiştir (75). Spontan hipertansiyon modelinde uygulanan düşük şiddetteki ( $VO_2$  MAX'ın %40-60'ı ağırlığında) koşu egzersizinin kan basıncını düşürdüğü, fakat yüksek şiddetteki egzersizin ( $VO_2$  MAX'ın %75'inden fazla) aynı etkiye sahip olmadığı gösterilmiştir (76). Grubumuzun 11-12 haftalık spontan hipertansif sıçanlarla yapmış olduğu çalışma sonucunda da 8 haftalık yüzme egzersizinin kan basıncını anlamlı olarak düşürdüğünü saptanmıştır (77).

**Dahl-Tuz Hipertansiyon Modeli.** Egzersizin anti-hipertansif etkisi, en iyi Dahl-tuz hipertansiyon modeli sıçanlarda görülmüştür. Egzersiz bu sıçanlarda da hipertansiyon gelişimini geciktirir ve tuz diyetiyle maksimal düzeye ulaşan kan basıncını önemli ölçüde düşürmektedir (15). Bu modelde fiziksel aktivitenin kan basıncını düşürücü etkisi koşu bandı ile yaptırılan yürüme egzersizinde gösterilmiştir (78).

**DOCA-Tuz Hipertansiyon Modeli.** Deoksikortikosteron asetat (DOCA) tuzu ile oluşturulan hipertansiyon modeli insanlardaki Conn sendromunu (primer hiperaldosteronizm) taklit etmektedir. DOCA tuz hipertansiyon modelinde egzersizin kan basıncına etkisiyle ilgili çok fazla çalışma yoktur. Yapılan deneyler sonucunda genellikle egzersizin kan basıncını düşürücü etkisinin olmadığı gösterilmiştir (15, 79).

**GoldBatt Hipertansiyon Modelleri.** İlk olarak ve renal arterin klipslenmesiyle oluşturulan deneysel hipertansiyon modelidir (60). Goldbatt hipertansiyon modelinde de egzersiz ile ilgili çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Egzersizin kan basıncını düşürdüğünü söyleyen çalışmaların yanında, etkisinin olmadığını söyleyen çalışmalar da literatürde yer almaktadır. "İki böbrek bir klips"

yöntemiyle hipertansif hale getirilen sıçanlarda 10 haftadan daha uzun süre yaptırılan koşu bandı egzersizin kan basıncını düşürmediği gösterilirken (22), aynı yöntemle hipertansif hale getirilen sıçanlara 6 hafta süreyle gönüllü egzersiz yaptırıldığında kan basıncının düştüğü gösterilmiştir (16).

**NOS İnhibisyonu Hipertansiyon Modeli.** Kronik L-NAME uygulaması ile hipertansif hale getirilen hayvanlarda egzersizin kan basıncı üzerine etkisini araştıran az sayıda çalışma bulunmakla beraber, gün geçtikçe yapılan araştırmaların sayısı artmaktadır. L-NAME uygulama süresi ve dozundaki değişiklikler farklı kan basıncı artışlarına neden olsa da, görülen net etki kan basıncında artış yönündedir. Bu model kullanılarak hipertansif hale getirilen sıçanlarda egzersizin kan basıncı üzerindeki anti-hipertansif etkinliğini oldukça fazladır.

8 hafta boyunca günde 10 mg/kg subkutan L-NAME uygulaması ile birlikte koşu bandı egzersizi yaptırılan sıçanlarda, kan basıncının önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (80). L-NAME hipertansif ratlarda 8 haftalık yüzme egzersizin etkisinin incelendiği diğer bir çalışmada ise, egzersizin kan basıncı üzerine olumlu etkisi saptanmıştır (81).

NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde egzersizin anti-hipertansif etkisini göstermek için bir seri çalışma yapılmıştır (18-20). Hem koşu bandı egzersizinin hem de yüzme egzersizinin L-NAME verilmesiyle NOS blokajı yapılması sonucu hipertansif hale getirilen sıçanlarda kan basıncını anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca yine aynı yöntemle 6 haftalık L-NAME tedavisiyle önceden hipertansif hale getirilen sıçanlarda da koşu bandı egzersizinin kan basıncında, hipertansif kontrollere göre istatistiksel olarak önemli düşüş yaptığı da ortaya konmuştur. NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde düzenli fiziksel aktivitelerin kan basıncını düşürücü etkisi bizim çalışmalarımızda eNOS (endotelial nitrik oksit sentaz) aktivitesinin artışı, direnç damarlarında yeniden yapılanma ile musküler tabakasında incelme, direnç damarlarının hem kimyasal uyarıcı (asetilkolin) hem de kan akımı (shear stress) gibi uyarıcılara verdiği gevşeme yanıtlarındaki düzelmelerin etkili olduğu gösterilmiştir (18, 20).

## 2.2. Karbonmonoksit

### 2.2.1. Karbonmonoksitin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

CO, tatsız kokusuz, renksiz ve diatomik bir gazdır bazı fiziksel özellikleri tablo 2.2' de belirtilmiştir (82). CO'nun çevresel ve endüstriyel süreçte toksik bir yan ürün olarak üretildiği uzun zamandan beri bilinmektedir. Hemoglobine oksijenden 245 kez daha fazla afinitesi bulunmaktadır (83). Hem bağlama bölgelerinde CO'nun parsiyel işgali oksijen salınımını inhibe eder ve oksijen disosiyasyon eğrisini sola kaydırır. CO'nun bu etkisi oksijen taşıma kapasitesini azaltarak doku hipoksisine yol açar. Yüksek konsantrasyonlarda CO'nun sitokrom P-450, sitokrom c ve miyoglobine bağlanmasıyla CO'nun zararlı etkilerini daha da arttır (83).

Yirminci yüzyılın ortalarında yapılan çalışmalarla CO'nun insanlarda endojen olarak üretildiği ve patofizyolojik koşullar altında CO üretiminin arttığı tespit edilmiştir (84). İnsan vücudunda günlük CO üretimi hemen hemen 20 µmol/saate yaklaşır (83). CO'nun uzun zamandan beri hem katabolizmasından kaynaklanan yararsız ve muhtemel toksik bir atık olarak üretildiği düşünülürken, günümüzde birçok kardiyovasküler fonksiyonu regüle eden anahtar bir sinyal molekülü olduğu tanımlanmıştır (83).

**Tablo 2.2.** CO'nun fiziksel özellikleri

Moleküler ağırlık	28.01
Kaynama noktası	-191.5 °C
Erime noktası	-199 °C
Özgül ağırlığı	0 °C, 1 atm 1.250 g/litre 25 °C, 1 atm 1.145 g/litre
Havaya göre bağıl yoğunluğu	0.967
Sudaki çözünürlüğü	0 °C 3.54 ml/100 ml 20 °C 2.32 ml/100 ml 25 °C 2.14 ml/100 ml
Havadaki patlama sınırı	12.5-74.2 %
Çevirme faktörleri	0 °C, 1 atm 1 mg/m <sup>3</sup> = 800 ppm 1 ppm = 1.250 mg/m <sup>3</sup> 25 °C, 1 atm 1 mg/m <sup>3</sup> = 0.873 ppm 1 ppm = 1.145 mg/m <sup>3</sup>

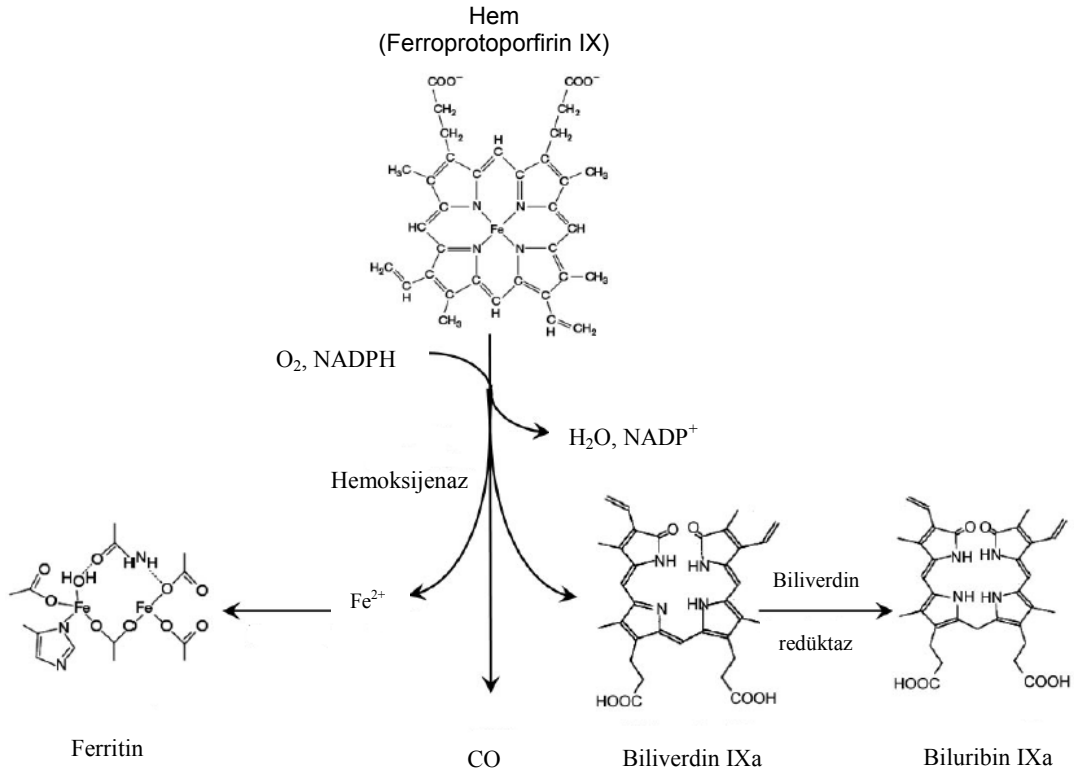
### 2.2.2. Endojen Karbonmonoksit Üretimi

1850'lerin başlarında Fransız biyolog Claude Bernard CO'nun hemoglobine geri dönüşümlü olarak bağlandığını ve hipoksiye neden olduğunu belirtmiştir (10). 1895'de yapılan bir çalışmada CO'nun hemoglobine bağlanması üzerinde, yüksek parsiyel oksijen basıncının antagonistik etkisi olduğu gösterilmiştir (85). Endojen CO üretimine dair ilk bulgu 1898 yılında Saint-Martin ve Niclous tarafından ortaya atılmıştır. 1950'li yıllara gelindiğinde ise hemoglobinin dekompozisyonu sonucu insan vücudunda CO'nun varlığı deneysel kanıtlarla ispatlanmıştır (86).

CO'nun temel biyolojik kaynağı (>%86) hemin, hemoksijenaz (HO) enzimiyle degradasyonudur. Az bir kısmı da fotooksidasyon, lipid peroksidasyonu ve ksenobiyotik metabolizmalar sırasında oluşur (83).

CO'nun non-enzimatik oluşumu. Hem molekülünün, metilen köprüleri kırılınca CO salınır (10). Sitokrom P450'in, NADPH (nikotinamid adenin dinukleotid fosfat) oksidasyonu ile inaktivasyonu hem ve apoenzim arasındaki bağın kırılmasına ve hem degradasyonuna neden olur (87). Nonenzimatik hem metabolizması bu şekilde meydana gelmesine rağmen, CO'nun çoğunluğu enzimatik hem metabolizmasıyla üretilir ve çoğunlukla retikuloendotelial sistemde gerçekleşir (10).

CO'nun enzimatik oluşumu. İnsan kanında bulunan CO, oksijen taşıyıcı hemoglobinin degradasyonundan kaynaklanır (82). Endojen CO özellikle hem degradasyonunda hız sınırlayıcı basamak olan mikrosomal hemoksijenaz enzimlerinin etkisiyle meydana gelmektedir (88). Hemoksijenaz, heminin  $\alpha$  mezo karbon köprülerini kırar; biliverdin, demir ve CO oluşturur (82).



Şekil 2.1. Enzimatik CO oluşumu

Eritrosit yıkımı sonrasında hem düzeyinin artması CO'nun da artışına neden olur. Hemoliz gibi hem metabolizmasının anormal şekilde arttığı durumlarda CO'nun üretiminde büyük ölçüde artar (10).

### 2.2.3. Hemoksijenazlar

Hemoksijenaz enzimi alglerden insanlara kadar olağanüstü bir şekilde korunmuştur (89). Bu korunum enzimin savunma stratejisi olarak başarısının ve hayatta kalma için öneminin bir göstergesidir. Bu enzimin kritik doğası gereği, HO-1 mutasyonlarının intrauterin yaşamda genellikle letal olması olasıdır ve bu konu ile ilgili vakalar literatürde bildirilmiştir (90).

Tenhunen ve arkadaşlarının hem katabolizmasının metabolizmasını tanımlamalarıyla 1968'de HO'nun keşfi gerçekleşmiştir (91). Daha sonra enzimin üç farklı izoformu olduğu gösterilmiştir. Bunlardan HO-2 ve HO-3 yapısal olarak oluşur, HO-1 ise biyokimyasal veya biyofiziksel stresle indüklenebilir ve enzimin yaygın olarak bulunan izoformudur (92-93).

1980'lerde çok çeşitli streslerle uyarılan 32-kD'luk bir memeli stres proteini ortaya konmuştur (94-96). Bu proteine sıçanlarda hipertermi ile uyarılan, "heat shock protein-32" (HSP-32) ismi verilmiştir (97). Çok geçmeden HSP-32'in daha önce tanımlanan HO-1 olduğu anlaşılmıştır (98-99). İnsan HO-1 geni hipertermi ile uyarılabilir olmamasına rağmen (98) (hepatoma hücre hattı Hep-3B hariç, (100)), insan HO-1'inden söz ederken hala zaman zaman HSP-32 terminolojisi kullanılmaktadır.

Hemoglobin molekülünde yer alan ve HO enzimlerinin substratı olan hem, dört tane pirol halkasının metilen köprüleriyle birleşerek (Fe-protoporfirin IX) oluşturduğu tetrapirel bir yapı olup, merkezinde demir içeren, önemli biyolojik aktivitelerde rol alan bir moleküldür. Hem, oksijen transportu/depolanması, enerji üretimi ve detoksifikasyonunda görev alan proteinlerin yapısında bulunur ve bu proteinler hemoprotein olarak adlandırılır. Hem molekülündeki pirol halkaları methen (mezo) karbon köprüleri ile birleşmiş durumdadır. Porphirin molekülü bir geçiş elementi ile şelat oluşturunca oksijene bağlanabilir, oksidatif reaksiyonların katalizinde ve elektron transferinde görev alabilir (101). Hem, hidrofobik ve düşük molekül ağırlıklı bir demir şelatı olup reaktif oksijen türleri ve lipid peroksidasyonuna neden olan öldürücü özellikte demir kaynaklı reaksiyonları tetikleyebilmektedir. Ayrıca heminin biyosentezi esnasında da fotokimyasal reaksiyonlar sonucu reaktif oksijen ürünleri oluşabilmektedir (101-102). Dolayısıyla hem ve hemoproteinlerin güçlü toksisitesi, hem molekülünün parçalanmasının hücrel metabolizma açısından kritik bir rolü olduğunu vurgulamaktadır. HO bu parçalanmayı gerçekleştirerek hücrel savunmaya katılmaktadır (102-104).

Hemoksijenaz enzimi prostetik gruba ihtiyaç duymayan, hem ile kompleks oluşturduğunda aktive olan, basit protein yapısında mikrozomal bir enzimdir. HO, hem molekülünü substrat ve prostetik grup gibi kullanan tek enzimdir (105).

HO, hem molekülünün alfa ve meso karbon köprülerini kırar ve heminin biliverdine parçalanmasını sağlarken ortama CO, serbest Fe<sup>+2</sup> ve biliverdin salınır. HO, heminin oksidatif degradasyonunda hız sınırlayıcı faktördür. Reaksiyon sırasında üç molekül oksijen ve nikotinamid adenin dinükleotid-sitokrom p-450 redüktazdan (NADPH-sitokrom p-450 redüktaz) gelen elektronlar kullanılır (102, 105). Sonuç olarak reaksiyon sonunda bir molekül heminin CO, Fe<sup>+2</sup> ve biliverdine degradasyonu



için üç molekül oksijen ve yedi adet elektron kullanılır. Biliverdin ise biliverdin redüktaz enzimi ile bilirubin IX $\alpha$  yapısına redüklenir (106). Oluşan reaksiyon ürünlerinin birçok hücresel işlevi (antioksidan, anti-inflamatuar, anti-apoptotik) olmasının yanında, HO lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikali oluşumunda etkili bir promoter molekül olan hemin ölümcül etkilerine karşı hücreyi korur (10, 82).

HO enziminin HO-1 ve HO-2 izoformları hem katalizini gerçekleştirirler (92, 107-108). İnsan HO-1 ve HO-2 enzimleri, farklı genlerin ürünüdür ve farklı biyokimyasal/biyofiziksel özelliklere sahiptirler. Ayrıca karboksil (-COOH) uçlarında benzer hidrofobik bölgeler mevcuttur (108). Aynı reaksiyonu katalizlemelerine rağmen her iki enzimin reaksiyon hızları, molekül ağırlıkları, Km değerleri, termostabiliteleri ve immünoreaktiviteleri bakımından birinden farklıdır (92, 109). HO-1'in moleküler ağırlığı 32 kDa, HO-2'nin ise 36 kDa'dır (110-111). HO-2, HO-1 'den farklı şekilde "hem regülatör bölgesi" olarak tanımlanan fonksiyonel bir bölge içerir (101, 112-113). Enzimin HO-3 olarak adlandırılan fakat hakkında çok fazla bilgi olmayan üçüncü bir izoformu da tanımlanmıştır. HO-3, HO-2 amino asit yapısıyla benzerlik gösterir fakat hem katalizinde daha az etkindir. HO-3 çok etkin olmayan bir şekilde hem katalizini gerçekleştirir ve hem bağımlı genlerin düzenleyicisi olarak görev yapar (9, 93).

HO-1 hemoksijenaz izoenzimlerin uyarılabilir formudur ve ekspresyonu en fazla dalakta meydana gelir. Ayrıca karaciğer retikuloendotelial hücrelerinde ve kemik iliğinde de eksprese olduğu bilinmektedir (114). Birçok dokuda fizyolojik koşullar altında bazal düzeyde eksprese olur fakat kimyasal veya fiziksel bir uyarıya karşı hızlı bir şekilde transkripsiyonel aktivasyonu gösterir.

HO-2 izoenzimlerin yapısal formudur, ekspresyonu baskın olarak beyin ve testiste bulunur. Ayrıca damarlar, merkezi sinir sistemi, karaciğer, böbrekler ve gastrointestinal sistemde yüksek miktarda HO-2 eksprese edilmektedir (114). HO-3 de yapısal form olup beyin, karaciğer, böbrek ve dalakta eksprese olmaktadır (93).

#### **2.2.4. Hemoksijenaz Uyarıcıları**

HO-1, stress proteini HSP-32 olarak da bilinir. HO-1 ekspresyonu pek çok endojen ve ekzojen uyarandan etkilenir. HO-1'in bilinen uyarıcıları arasında hem, hem derivatları, ısı şoku, ağır metaller, NO, NO donörleri, okside lipidler, hiperoksi, lipopolisakkaritler, phorbol ester, sodyum arsenit, radyasyon, ultraviyole, hidrojen peroksit, hipoksi, endotoksin, büyüme faktörleri (trombosit kaynaklı büyüme faktörü, transforming büyüme faktörü  $\beta$ ), çeşitli elektrofiller, okadaik asit, metilglioksal, curcumin, oksidatif stres, sitokinler (interlökin-1, interlökin-6, interlökin-10, TNF- $\alpha$ , interferon- $\gamma$ ) shear stres, şiddetli ışık, Ang II, glikoz yoksunluğu sayılabilir (10, 114). Bu uyarıcılardan bazıları intrasellüler reaktif oksijen türlerinin üretimini doğrudan veya dolaylı olarak artırır veya intrasellüler redoks dengesini modüle eder. HO-1'in artışı, oksidatif stresin genel indikatörü olduğunun göstergesidir (115). Yapısal form HO-2'nin ekspresyonu ise adrenal glukokortikoidlerle ve opiatlarla artar (10, 116). HO-1'in yukarıda belirtilen uyarıcılara ek olarak, egzersizin de HO-1 yapımını arttırdığına dair çalışmalar literatürde mevcuttur. Bu konu ileride daha detaylı tartışılacaktır.

### 2.2.5. Karbonmonoksitin Etki Mekanizması

CO'nun etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmaları aydınlatmak amacıyla yapılan yoğun araştırmalar sonucunda, CO'nun düşük konsantrasyonlarda protektif etkilerinin (anti-inflamatuar, anti-apoptotik, anti-proliferatif vb.) olduğu gösterilmiştir (108). CO yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunda hemoglobinin oksijen bağlanma bölgesine kompetitif bağlanarak karboksihemoglobin oluşturur ve hipoksemiye neden olur. Uzun süre yüksek konsantrasyonlarda CO'ya maruz kalınması bulantı, baş dönmesi, bilinç kaybı gibi birçok klinik etkiye neden olabilir (117). CO'nun protektif etkilerinin yani endojen oluşan CO'nun hücrelerdeki etkilerinin mekanizmaları aşağıda açıklanmıştır.

CO'nun çeşitli yollarla ekzojen olarak verilmesi HO-1'in uyarılmasıyla endojen oluşumuna benzer etkiler gösterir. CO'nun fizyolojik işlevini temelde iki mekanizma ile açıklamak mümkündür. CO, çözünebilir guanilat siklazı (sGC) aktive ederek cGMP üretimini uyarır. Bunun yanında çeşitli mitojen activated protein kinazların (MAPK) aktivasyonunu düzenleyerek ve Ca<sup>2+</sup> bağımlı K<sup>+</sup> kanallarını aktive ederek fizyolojik etkilerini gösterir (82).

CO, sGC'ı aktivitesini artırarak cGMP üretimini uyarır. sGC/cGMP yolağı, CO'nun nörotransmisyon, vasküler relaksasyon, düz kas relaksasyonu ve bronkodilatasyon, koagülasyon ve düz kas proliferasyonunun inhibisyonu etkilerinin ortaya çıkmasında görev alır. CO'nun vazodilatatör etkisi pek çok çalışmada gösterilmiştir (82). Aort halkalarında L-NAME ve HO inhibitörü SnPPIX (kalay protoporfirin) varlığında alınan Ach gevşeme yanıtları azalmıştır (118). Oysaki torasik aortada Phe'ne verilen endotel bağımlı kasılma yanıtı, L-NNA ve HO inhibitörü ZnPPIX (çinko protoporfirin) birlikte uygulandığında L-NNA'nın tek başına uygulanmasından daha fazla artış göstermiştir (119). CO sGC/cGMP aracılı vazodilatör etkisinin yanı sıra, cGMP bağımsız mekanizmalarla da vazoregülatör etki göstermektedir. CO, Ca<sup>2+</sup> bağımlı K<sup>+</sup> kanallarını aktive ederek Ca duyarlılığını azaltır ve vasküler düz kasın hiperpolarize olarak gevşemesini sağlar (120-121). CO üretiminin azalması vasküler düz kas hücrelerinde açık K<sup>+</sup> kanallarının sayısının azalması ile beraber gerçekteşir ve vasküler kontraktilite artar; bu etki ekzojen CO uygulaması ile düzelir (122).

CO uygulaması inflamasyon ve strese cevaben oluşan hücresel sinyal iletiminde kritik öneme sahip olan MAPK yolağını modüle edebilir. Özellikle p38 MAPK sinyal yolağı CO'nun anti-inflamatuar, anti-apoptotik ve anti-proliferatif etkilerine aracılık eder (123-126). Bu yolaklar arasındaki entegrasyon hücre tipine spesifik olarak değişiklik gösterir (108). CO, sGC aktivasyonu ve sonrasında p38 $\beta$  MAPK aktivasyonu ile, siklin bağımlı kinaz inhibitörü p21<sup>waf1/Cip1</sup> ekspresyonunda artışa neden olarak düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eder. (124). Mitokondri veya membran kaynaklı hücresel serbest oksijen radikali üretiminin düzenlenmesi, CO bağımlı sinyal ile gerçekteşir. CO tarafından NADPH oksidaz inhibisyonu ve sonucunda O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretiminin azalması CO'nun anti-inflamatuar, anti-proliferatif etkilerine yol açar (127-128).

Son yapılan gözlemlere dayanarak CO sinyali sonrası efektör moleküller olarak fonksiyon gösteren proteinler arasında heat shock protein-70 (HSP-70),

peroxysome proliferator activated receptor-g (PPAR-g), anti-inflamatuar nukleer regülatör Egr-1 ve caveolin-1 yer almaktadır (108). Ayrıca CO'nun toll like receptor (TLR) aktivasyonunu down-regülasyonu sağlayarak anti-inflamatuar etki gösterdiği, tanımlanan yeni mekanizmalar arasındadır (129).

### 2.2.6. Karbonmonoksitin Fonksiyonları

CO, uzun yıllardan beri hem metabolizması sonucu oluşan yararlı, toksik bir ara ürün olarak tanımlanmıştır. Oysaki CO hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev alan önemli bir sinyal molekülüdür. CO'nun fonksiyonları aşağıda özetlenmiştir.

**CO'nun anti-inflamatuar etkisi.** Sepsis hayvan modelleri ve hücre kültürü çalışmalarında HO-1 kaynaklı veya ekzojen CO'nun anti-inflamatuar etkili olduğu gösterilmiştir (123). Fizyolojik olarak vücut sıvısındaki CO konsantrasyonu 100 ile 500 ppm arasında değişiklik göstermektedir. Bu konsantrasyon dağılımında CO makrofajlardan kaynaklanan TNF- $\alpha$ , MIF (Macrophage Migration Inhibitory Factor), interlökin-1 (123) ve aktive olmuş T hücrelerinden salınan interlökin-2 gibi proinflamatuar sitokinlerin salınımını engeller (130). Ayrıca CO anti-inflamatuar sitokin olan interlökin-10'nun sentezini uyarır. CO'nun anti-inflamatuar etkisi, cGMP'den bağımsız olarak p38 kinaz aracılıdır (123).

**CO'nun anti-apoptotik etkisi.** CO'nun olası antiapoptotik etkisi ilk kez in vitro olarak gösterilmiştir. Hücre kültürlerine ekzojen olarak CO uygulanması, fare endotel hücrelerinde (125) ve fibroblastlarında (131) tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ile başlatılan apoptozisi engellemiştir. Benzer anti-apoptotik etki HO-1 ekspresyonunda artış ile de gözlenmiştir (131). Düşük konsantrasyonlarda ekzojen olarak CO uygulanması, pulmoner arter endotel hücre kültürlerinde iskemi ve reperfüzyonla uyarılan apoptozisi engeller (132). Endotel hücrelerde, MAPK yolağının selektif kimyasal inhibitörü kullanılarak TNF- $\alpha$  ile uyarılan apoptozis üzerine CO'nun inhibitör etkisinin kalkması, p38 MAPK sinyal yolağının kullanıldığını göstermektedir (125). Ayrıca HO-1 veya CO'nun TNF- $\alpha$  aracılı endotel hücre apoptozundan hücreyi korumak için, NF $\kappa$ B bağımlı anti-apoptotik genler (c-IAP2 ve A1) ile birlikte çalıştığını gösteren araştırmalar mevcuttur (133).

**CO'nun anti-proliferatif etkisi.** CO'nun hücre proliferasyonundaki inhibitör etkisini ilk kez ortaya koyan Morita ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada, hipoksik koşullarda CO veya HO-1 kullanılarak düz kas hücre proliferasyonunun regüle edildiğini göstermişlerdir (134-135). Hipoksi ile uyarılan HO-1 ekspresyonundaki artış sonucunda vasküler düz kas hücrelerinden endojen olarak üretilen ve salınan CO, hücre kültüründe endotel hücrelerin endojen cGMP üretimini arttırmıştır. Bu modelde vasküler düz kas proliferasyonunun CO ile baskılanması, endotelin-1 (ET-1) ve platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi endotel hücre mitojenlerinin ekspresyonunun cGMP bağımlı down-regülasyonu ile ilişkilidir (134).

CO'nun kanser hücreleri, T hücreleri, vasküler düz kas hücreleri gibi birçok hücre tipinde hücre proliferasyonunu engellediği de gösterilmiştir. Gen transferiyle ekzojen HO-1 uygulaması veya ekzojen CO uygulaması vasküler düz kas

proliferasyonunu sadece cGMP üretimi ile değil, aynı zamanda G1-siklin bağımlı protein kinaz inhibitörü p21<sup>cip1</sup> ve p38 MAPK aktivasyonu ile Go/G1'de durdurarak yapmaktadır (124, 136-137). Ayrıca, CO'nun ERK1/2 üzerinde baskılayıcı etki göstermesi anti-proliferatif etkiye katkıda bulunabileceğini göstermektedir (128).

**CO'nun nörotransmisyonel etkisi.** Olfaktör sinyal iletimi, uzun süreli güçlenme (LTP, long-term potentiation), nonadrenerjik nonkolinerlik (NANC) bağımlı kas gevşemesi, sirkadyan ritmin kolinerjik regülasyonu, kardiyovasküler fonksiyonların otonomik regülasyonu gibi birçok nörolojik süreçte CO bir sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır (114).

CO'nun LTP süresince postsinaptik ve presinaptik nöronların arasında retrograd haberci olarak görev yaptığı bilinmektedir (138-141). Özellikle hipokampusun CA1 bölgesinde CO'nun retrograd bir haberci olduğu, bunun yanında presinaptik sGC'yi doğrudan aktifleyen bir molekül olarak da davrandığı belirtilmektedir (101).

**CO'nun vasküler tonusa etkisi.** CO'nun damar tonusunun düzenlenmesinde etkileri olduğunu gösteren önemli deliller vardır. Aortada, ve bir çok arterlerde CO'nun damar tonusunu düzenlediği gösterilmiştir (7, 142-143).

Ekzojen olarak uygulanan CO'nun, fenilefrin (Phe) ile prekontrakte olan sıçan kuyruk arterinde gevşeme yaptığı gösterilmiştir (143). CO'nun neden olduğu vazorelaksasyon için sağlam endotel gerekli değildir. CO yapımının engellenmesi vasküler kontraktileti artırır (143). CO'nun birçok damar dokusunda vazorelaksasyona sebep olduğu bilinmekle beraber vasküler etkileri Tablo 2.3'de gösterilmiştir (7).

Düşük konsantrasyonlarda CO uygulaması internal depolardan NO salınımına neden olarak vazodilatör etki gösterebilmektedir (143). CO, yeteri kadar yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu veya endojen NO üretiminin azaldığı durumlarda endojen vazodilatör olarak görev yapabilmektedir (118).

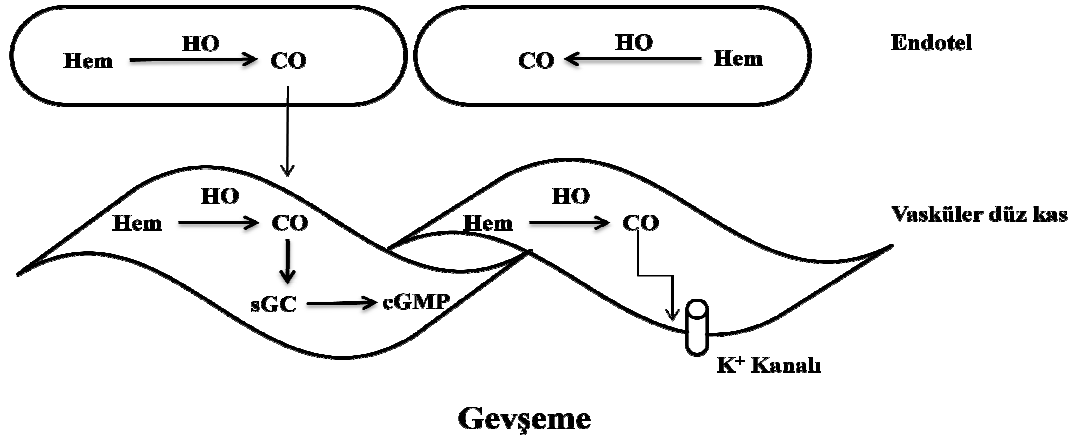
CO'nun vazodilatör etkilerinin yanı sıra, düz kas hücrelerinden CO salınımının vazokonstriktör ET-1 ve platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) üretimini engellediği gösterilmiştir (134). Böylelikle bu inhibisyon CO'nun vasküler tonus üzerindeki etkilerine katkıda bulunmaktadır.

Yapılan birçok çalışmada CO vazodilatör etkisini sGC aktive ederek ve bu aktivasyona bağlı olarak cGMP düzeyinde artışa neden olarak gösterir (9, 136, 144). Spesifik guanilat siklaz inhibitörleri varlığında CO'nun vazodilatör etkisinin kaybolması, bu etkinin belirli oranda bu mekanizma ile geliştiğini doğrulamaktadır (145). Bunun yanında CO iyon kanallarını modüle ederek de vazodilatasyona neden olmaktadır. CO, Ca<sup>2+</sup> bağımlı K<sup>+</sup> kanallarını aktive eder, bu kanalların Ca duyarlılığını azaltır ve düz kasın hiperpolarize olarak gevşemesini sağlar (121). Ca<sup>2+</sup> bağımlı K<sup>+</sup> kanallarının kanal inhibitörleri varlığında vazodilatör etkinin belirli oranda azalması da bu vazodilatör etkinin cGMP yanında geniş kondüktanslı Ca<sup>2+</sup> bağımlı K<sup>+</sup> kanalı ile birlikte oluşturulduğunu göstermektedir (Şekil 2.2).

**Tablo 2.3.** CO'nun farklı tür hayvanlarda vasküler etkileri

DOKU	Tür	CO kaynağı	Vasküler Etki
Aort	Tavşan	Ekzojen	Gevşeme
Aort	Rat	Ekzojen	Gevşeme
Basillar ve middle serebral arter	Köpek,tavşan	Ekzojen	Etkisiz
Karotid, koroner ve femoral arter	Köpek	Ekzojen	Gevşeme
Korener arter	Rat	Ekzojen	Gevşeme
Korener arter	Domuz	Ekzojen	Gevşeme
Korener arter	Domuz	Endojen	Gevşeme
Korener arter ve ven	Domuz	Ekzojen	Gevşeme
Gracilis kası arteri	Rat	Endojen ve ekzojen	Kasılma?
Hepatik arter	Rat	Endojen	Etkisiz
Hepatik ven	Rat	Endojen	Gevşeme
Mezenterik arter	Domuz	Ekzojen	Gevşeme
Pial arteriyol	Domuz	Endojen ve ekzojen	Gevşeme
Pulmoner arter	Tavşan	Ekzojen	Gevşeme
Pulmoner arter, ven	Domuz	Ekzojen	Gevşeme
Renal arter	Rat	Ekzojen	Gevşeme
Kuyruk arteri	Rat	Ekzojen	Gevşeme

CO doğrudan düz kas hücrelerinde  $K^+$  kanalları ve cGMP düzeyinin modülasyonu ve dolaylı olarak da endotel bağımlı vazokonsriktörler ve miyojenik faktörlerin modülasyonu gibi mekanizmalar aracılığıyla etki gösterir (146). Bazı araştırmalar CO'nun aort gibi büyük damarlarda cGMP aracılı etki gösterdiğini (142, 147), bazıları da renal arter veya pial arteriyoller gibi daha küçük damarlarda  $Ca^{2+}$  ile aktive olan  $K^+$  kanalları vasıtasıyla dilatasyona neden olduğunu belirtmekle birlikte net bir ayırım yoktur (122, 148).



**Şekil 2.2.** Vasküler düz kasta CO'nun etki mekanizması

### 2.2.7. Karbonmonoksit ve Nitrik Oksit Etkileşimi

Son yıllarda CO ve NO'nun moleküler yapılarının benzerlikleri dışında fonksiyonları arasındaki benzerlikler, birbiri ile yarışmaları, üretimlerini düzenlemeleri, birinin diğerini yedeklemesi gibi bulgular açısından araştırmalara sıklıkla konu olmaktadır. Bu bölümde literatürde bu konu ile ilgili yer alan bilgiler tartışılacaktır.

**Benzerlikler.** CO ve NO benzer özellikler taşıyan ve endojen oluşabilen gaz molekülleridir. Her iki diatomik gaz da benzer molekül ağırlığına, çözünürlüğe ve bazal üretim hızına sahiptir. Yüksek lipofilik karakterleri sayesinde gerekli olduğu zaman düşük konsantrasyonlarda üretilerek hücre membranından hızla difüze olabirler (149). CO ve NO'nun fonksiyonel açıdan benzer özellikleri ise:

- retrograd habercidirler
- cGMP üretimini arttırarak etkilerini oluştururlar
- hücre dışında reseptöre ihtiyaç duymadan komşu hücreleri etkilerler
- oldukça kısa ömürlüdürler

Böylelikle her ikisi de transselüler haberci olarak görev yapar ve vasküler fizyoloji ve patolojide önemli roller üstlenirler (150).

**Farklılıklar.** Bu iki gaz molekülünün benzer özellikleri olmasına rağmen, önemli farklılıkları da mevcuttur. Bir serbest radikal NO, reaktif nitrojen türleri ile reaksiyona girerek S-nitrozo veya S-nitro-tiyol türevlerini, ayrıca süperoksit anyonu ile reaksiyonu sonucu peroksinitrit oluşturabilmektedir (151). CO ise kararlı bir gaz olup, serbest radikal değildir ve bu yüzden NO'nun pek çok oksidatif ve redüktif reaksiyon özelliklerini göstermez. İki gazın da farklı bağlanma özellikleri vardır; CO sadece ferrus heme bağlanırken, NO hem ferrik hem de ferrus hemoproteine bağlanır (149). CO, sGC enziminin hem grubundaki demire doğrudan bağlanarak konformasyonel değişikliğe neden olup, enzim aktivitesinin artmasına ve cGMP üretimine neden olur. CO ile sGC aktivasyonu, NO'ya göre nisbeten daha zayıftır (151). CO, sGC enziminin hem demirine farklı biçimde bağlanarak heksakordinat ligand yapısı oluşturur, oysaki NO'nun bağlanması pentakordinattır (152).

CO ve NO benzer kardiyovasküler fonksiyonlara sahiptirler ve her ikisi de vasküler duvarda üretilmektedir (101). CO ve NO temel fizyolojik etkilerini göstermekte ortak oldukları nokta sGC'ı aktive ederek cGMP üretimini arttırmalarıdır. Her ikisinin de üretimlerinin çeşitli durumlarda artması veya azalması aralarındaki etkileşimi oldukça komplike kılmaktadır (7, 151).

**CO'nun NOS/NO sistemine etkisi.** Tanım olarak tartışmalı bir konu olsa da NO'nun hem, hemoproteinler ve tiyol gruplarına bağlanarak depolanabildiği ve gerektiğinde bu yapılardan ayrılmasıyla etkisini gösterdiği iyi bilinmektedir. CO bazı durumlarda depolanmış olan NO'nun bağlandığı yapılardan ayrılarak salınmasına ve etkinliğinin artmasına neden olabilir (10). Çeşitli doku ve kültür ortamlarında gösterilen bu durumun yaşayan organizmadaki işlerliği henüz net değildir. CO'nun, NO molekülüne direkt etkisinden başka NOS enzimi aktivitesi ve ekspresyonuna etkisi daha ön plandadır. CO'nun NO'yu düzenleyici etkisinde doz önemli faktörlerden biridir. Düşük konsantrasyonda CO, eNOS uyarımı yaparak NO salınımını uyarırken, yüksek düzeydeki CO, eNOS aktivitesini azaltmaktadır (150).

**NO'nun HO/CO sistemine etkisi.** NO, HO enzimlerinin transkripsiyonel olarak düzenlenmesini gerçekleştirebilmektedir. Pek çok çalışmada vasküler düz kas hücreleri ve endotel hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerinde NO'nun, HO-1 için güçlü bir uyarıcı olduğu gösterilmiştir. Fakat belirtmek gerekir ki, NO'nun, HO-1 ekspresyonunu uyarması genellikle fizyolojik koşullarda gözlenen bir durum değildir. Endotel hasarının söz olduğu vasküler patolojilerde oluşan fizyolojik stres veya patofizyolojik koşullara maruz kalındığı zaman, NO ve/veya peroksinitrit miktarının artmasıyla HO-1 ekspresyonu uyarılabilmektedir (153). NO'nun HO-1 ekspresyonuna etkisi genellikle artma şeklinde gözlenirken, HO-2'de ise baskılanma olarak ortaya çıkmaktadır.

CO ve NO, vazoregülasyonun yanında nörotransmisyon, trombosit agregasyonunun inhibisyonu gibi pek çok biyolojik fonksiyonu gerçekleştirmelerine rağmen birbirlerinin yerine geçen moleküller değildir. Her ikisinin de farklı, sinerjik hatta antagonistik etkiler gösterdiği durumlar mevcuttur (89). Şüphesiz hem CO hem de NO geniş çapta önemli biyolojik olaylara katılan moleküller olmalarına rağmen, aralarındaki etkileşim hakkında açıklanması gereken çok şey vardır. Fakat şimdiye kadar elde edilen bilgiler ışığında aradaki ilişki; 1) NO üretiminin azaldığı veya olmadığı koşullar altında CO'nun, sGC'ın başlıca regülatörü olması (yani NO'yu yedeklemesi), 2) NO'nun artışının ön planda olduğu durumlarda ise CO'nun antagonistik etki göstermesi şeklinde özetlenebilir.

### **2.3. Karbonmonoksit ve Hipertansiyon**

HO/CO sisteminin vasküler tonus üzerindeki etkileri ortaya konduktan sonra hipertansiyon oluşumu veya gelişimi ile ilgili birçok patolojik süreçte rol oynayabileceğini gösteren araştırma sonucu ortaya konmuştur. CO eksikliğinin periferik direnci arttırmasının yanında, vasküler duvarı oluşturan hücrelerin apoptozisine ve proliferasyonuna etkisi, oksidatif stresi arttırabilmesi ve CO ile NO arasındaki karmaşık ilişkinin bozulması kan basıncı yükselmesine neden olabilmektedir (7). CO'nun güçlü bir vazokonstriktör olan ET-1 yapımını engellemesi de ileri sürülen mekanizmalardan biri olarak sayılmaktadır (134). CO'nun 80'lerin sonu, 90'ların başından itibaren önce ekzojen olarak sonra endojen olarak vazorelaksan etkileri ortaya konduğu halde, HO/CO sisteminin hipertansiyon ile ilişkili bilgi birikimi yalnızca hayvanlarda yapılan deneysel hipertansiyon araştırmalarından gelmektedir. İnsanlarda ortaya konmuş bir sebep-sonuç ilişkisi henüz yoktur.

HO inhibisyonunun etkisi. Metalloporfirinler ile Sprague-Dawley tipi sıçanlarda HO enziminin inhibisyonu sonucu periferik direncin artmasına bağlı olarak arteriyel kan basıncının artması 1995 yılında (Johnson ve ark) gösterilmiştir (154). Bu sonuç her sıçan türünde tekrar edilememiştir. HO inhibisyonunun kan basıncını yükseltici etkisinin, bu enzimin ürünlerinden olan biliverdin ve demir oluşumu azalmasından ziyade CO'dan olduğu kabul edilmektedir (154).

Yapılan çalışmalar endojen olarak üretilen CO'nun, merkezi sinir sistemi aracılığıyla kan basıncı düzenlenmesine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Sistemik HO inhibisyonu sonucu beyin HO aktivitesinin baskılanmasıyla merkezi sinir sistemi sempatik deşarjı artması sonucu kan basıncını yükselmektedir (83).

Bunun yanında HO inhibitörlerinin doğrudan nucleus tractus solitariusa uygulanması kan basıncını artırırken ipsilateral nucleus tractus solitariusa içine CO'nun verilmesi ile kan basıncı normale geri dönmektedir (155).

CO'nun deneysel hipertansiyon modellerindeki etkisi. Daha önce de söz edildiği gibi günümüzde haklı olarak insanlar üzerinde yapılabilecek girişimlerin sınırlanmasından dolayı, hipertansiyon konulu araştırmalarda deneysel hayvan modelleri çok önemli hale gelmiştir. Herhangi bir müdahale yapılmadan sürekli ölçümlerle kan basıncı yüksek hayvanların saptanıp çiftleştirilmesi ve bunun birkaç kuşak devam ettirilmesi ile elde edilen spontan hipertansif sıçanlar, insanlardaki esansiyel hipertansiyonun eşleniği kabul edilmektedir. Spontan hipertansif sıçanların doğumdan hemen sonra yüksek olmayan kan basınçları 8 haftalık iken yükselmeye başlamakta, 12 hafta civarında iken hipertansiyon tablosu oturmuş olmaktadır (10). Spontan hipertansif sıçanlarda HO/CO sistemi üzerine yapılmış önemli sayıda araştırma mevcuttur. Bu konudaki en önemli bulgu yaşları ilerledikçe kan basıncı seyri değişen hipertansif sıçanlarda HO/CO sisteminde değişim göstermektedir. Hipertansiyonun henüz başlamadığı 4 haftadan önce vasküler dokulardaki (aort, pulmoner, mezenter, kuyruk arterlerinde) HO-1 ekspresyonu, kontrolleri olan Wistar-Kyoto sıçanlara göre düşük bulunurken, kan basıncının yükselmeye başladığı 8 hafta civarında da düşüklük devam etmektedir. Erişkin yaşa gelip hipertansiyon süreçlerinin oturduğu spontan hipertansif sıçanların vasküler dokularında HO-1 ekspresyonu yüksek saptanmaktadır (156).

Spontan hipertansif sıçanlarda HO-1'in farmakolojik olarak uyarılması veya HO substratlarının verilmesi kan basıncında önemli düşüş yapmaktadır (83, 157). Ayrıca HO inhibitörü ile tedavi sonrası spontan hipertansif sıçanların kan basıncının daha da yükselmesi (156), hipertansiyon süreçlerinde HO/CO sisteminin önemli bir kompanzasyon gösterdiğini ortaya koymaktadır. Spontan hipertansif sıçanlarda sGC ekspresyonu ve cGMP düzeyi düşük saptanmaktadır (7). CO'nun etkisini ortaya çıkardığı diğer bir yol olan  $Ca^{2+}$  bağımlı  $K^+$  kanallarının hem ekspresyonunun hem de duyarlılığının SHR'lerde yüksek olması, CO'nun gevşetici etkisini göstermesi için önemli bir zemin hazırlamaktadır (7).

HO/CO sisteminin kompensatuar rol oynadığı diğer hipertansiyon modelleri arasında Ang II ile uyarılmış hipertansiyon, bir böbrek-bir klip renovasküler hipertansiyon, portal hipertansiyon, pulmoner hipertansiyon vardır. Bu hipertansiyon modellerinde yapılan çeşitli araştırmalarda HO-1 aktivitesi veya ekspresyonu veya mRNA'sı artmış bulunmuştur (10).

#### **2.4. Karbonmonoksit ve Egzersiz**

Egzersiz, hipertansiyon ve diğer kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki koruyucu etkisi artık çok iyi bilinmektedir. Düzenli yapılan fiziksel aktiviteler sonucu çeşitli dokularda oluşan adaptasyon süreçleri kan damarlarında da gözlenir. Egzersiz, damar kompliyansında artışa neden olarak kan basıncında düşüşe neden olabilir (22). Birçok çalışma egzersizdeki aktif doku olan çizgili kas dokusu direnç damarlarının endotelinde, NO başta olmak üzere gevşetici maddelerin salgılarında artışa neden olduğunu; bunun yanın da damar düz kasının vazokonstriktör uyarılara



karşı yanıtının da azaldığını göstermiştir (158). HO/CO sisteminin egzersize bağlı değişimleri üzerine literatürdeki çalışma sayısı oldukça azdır.

Egzersiz ve HO/CO sistemi arasındaki ilişki daha çok akut fiziksel aktivite sonrası HO enzimidaki değişiklikler düzeyinde incelenmiştir. İlk olarak 1997 yılında önceleri HSP-32 olarak ta adlandırılan HO-1 mRNA'sının iskelet kasında tüketici egzersiz sonrası ve sinir stimülasyonu ile yapılan kas kontraksiyonları sonrası arttığı gösterilmiştir (159). Akut egzersizin kan hücrelerindeki HO-1'e etkilerine bakan bir seri çalışmada, lenfositler, monositler, granüositlerde olmak üzere ekspresyonun arttığını hem deney hayvanlarında hem de insanlarda göstermişlerdir (160-161). Bu çalışmalardan çıkan bir diğer gözlem de HO-1'i uyaran egzersiz düzeyi için şiddetli ve/veya uzun süreli fiziksel aktivite uygulaması olduğudur (162-163). Kan hücrelerinde akut egzersize bağlı HO-1 artışı aynı zamanda iskelet kaslarında da izlenmiştir (164-165). Düzenli egzersizler ile gerçekleştirilen antrenmana bağlı değişimlerin izlendiği çok az sayıda çalışmada, sıçanların kalp kaslarında HO-1 gen ekspresyonununun 14 haftalık koşu bandı egzersizi sonrası arttığı gösterilmiştir (166).

Düzenli egzersizler sonucu oluşan vasküler düzenlemelerde HO/CO sisteminin etkisi iki farklı çalışmada incelenmiştir. 6 haftalık koşu uygulaması sonrası aortta HO-1 ve HO-2 proteinlerinin artması yanında, HO aracılı endotel kaynaklı gevşemenin arttığı gösterilmiştir (21). Diğer yönden düzenli egzersiz yaptırılan spontan hipertansif sıçanların ekzojen CO'ya verdiği gevşeme yanıtı artmıştır, bu durum K<sup>+</sup> kanalları aracılığıyla olmaktadır (22).

Egzersizle uyarılan HO/CO sistemindeki artışının altında yatan mekanizma açık değildir. HO-1 antioksidan stres proteini olduğundan dolayı (114, 167), egzersiz sırasında görülen nötrofil aktivasyonu ile endojen antioksidan savunma mekanizmalarını tetiklenebileceği ileri sürülmektedir (167). Ayrıca savunma sisteminin önemli bir parçası olarak HO, egzersiz sırasında termal stres ve kas hasarından dolayı düzenlenebilir (21). Böylece vasküler dilatasyon ve doku korumasında rol oynayabilir.

## **2.5. Amaç ve Hipotez**

NOS inhibisyonuyla hipertansif hale getirilen sıçanlarda düzenli fiziksel aktivitenin kan basıncını düşürmesinin mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynayan direnç damarlarının bazal tonusunun ayarlanmasında NO ön planda yer alan maddelerden birisidir. Bu hipertansiyon modelinde de düzenli egzersizler sonucu NO üretiminde olumlu yönde değişiklikler olduğunu daha önceki çalışmalarımızda göstermemize rağmen, sonuçlar başka bir vazodilatörün de katkıda bulunduğuna işaret etmektedir. Hem CO'nun NO için bir yedekleme molekülü olabilmesi hem de HO/CO sisteminin egzersizle up-regüle olabilmesi, NOS inhibisyonu ile hipertansif hale getirilen sıçanlarda düzenli fiziksel aktivite sonrası direnç damarlarında görülen gevşeme yanıtlarının düzelmesinde CO'nun rolü olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmanın amacı NOS inhibisyonu ile hipertansif hale getirilen sıçanlarda düzenli fiziksel aktivite sonrası damarlarda görülen gevşeme yanıtlarının düzelmesinde CO'nun rolü olup olmadığını ortaya koymaktır.

Hipotez: NOS inhibisyonuyla hipertansif hale getirilen sıçanların damarlarında yüzme egzersizine bağlı olarak CO damar gevşeme yanıtı ve hemoksijenaz ekspresyonu artar.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilen bu çalışmada 6-9 aylık, erişkin, Wistar cinsi toplam 40 adet erkek sıçan kullanıldı. Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurul onayı ile Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneyle Hayvanları Bakım ve Üretim Ünitesinden temin edilen sıçanlar, sıcaklığı  $33 \pm 2^\circ\text{C}$  olan ve 12 saat gün ışığı - 12 saat karanlık periyodu uygulanan bir odada tutuldu ve kısıtlamaksızın (ad libitium) ticari sıçan yemi ile su tüketimine bırakıldılar.

Sıçanlar çalışmanın başlangıcında rastgele olmak üzere dört gruba ayrıldı. Her grupta 10 hayvan olmak üzere gruplandırma aşağıda belirtilen şekilde yapıldı:

- a) Kontrol grubu (K, n=10)
- b) Egzersiz grubu (E, n=10)
- c) Hipertansif grup (H, n=10)
- d) Hipertansif egzersiz grubu (HE, n=10)

### 3.1. Egzersiz Protokolü

Egzersiz grubundaki hayvanlara fiziksel aktivite modeli olarak yüzme egzersizi uygulandı. Düzenli aerobik yüzme egzersizi şeklinde uygulanan antrenman protokolü için çeşme suyuyla doldurulan ve su sıcaklığı  $33 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de sabit tutulan 50x50x100 cm boyutlarındaki akvaryumlar kullanıldı. Egzersiz programının ilk günlerinde hedeflenen 1 saatlik egzersiz süresine ulaşmak için, çalışma başında hayvanların suda kalma süreleri kademeli olarak arttırıldı ve amaçlanan günlük egzersiz süresine birkaç gün içinde ulaşıldı. Yüzen hayvanlara 6 haftalık çalışma süresi boyunca yüzme egzersizi haftada 5 gün, günde 1 saat olacak şekilde uygulandı. Yüzme egzersizini takiben hayvanlar bir havlu yardımıyla kurularak kafeslerine yerleştirildi. Hipertansif egzersiz grubunda yüzme egzersizi uygulaması, hayvanların içme sularına L-NAME verilmesiyle, eşzamanlı olarak başlatıldı ve birbirine paralel olarak devam ettirildi. Uygulanan çeşitli egzersiz protokolleriyle kıyaslandığında, bu sıçanlarda kullanılan egzersiz şiddetinin  $\text{VO}_{2\text{MAX}}$ 'ın % 55-60'ına karşılık gelmektedir (78). Bu özelliği nedeniyle bu protokol düşük-orta şiddetli bir aerobik egzersiz sayılabilir. Düzenli yüzme egzersizi yapan sıçanların, antrene oldukları vastus lateralis kasının kırmızı kas liflerinde sitrat sentaz aktivitesi çalışılarak test edildi.

### 3.2. Hipertansiyonun Oluşturulması

Deneysel L-NAME hipertansiyon modeli oluşturmak amacıyla hayvanların içme sularına spesifik olmayan bir NOS inhibitörü olan L-NAME ( $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{gün}^{-1}$ ) ilave edildi. Hayvanların günlük su tüketimi belirlenerek amaçlanan L-NAME dozunun alınması sağlandı. Suda çözülmüş L-NAME'nin zamanla aktivitesini yitirmesi nedeniyle, L-NAME'li içme suyu iki günde bir taze hazırlandı ve önceden

artan L-NAME'li içme suyu tekrar kullanılmadı. Bu şekilde hipertansif ve hipertansif egzersiz gruplarındaki sıçanlar 6 hafta boyunca içme sularıyla L-NAME aldılar.

### 3.3. Kan Basıncı Ölçümü

Deneydeki hayvanların kan basınçları invazif olmayan tail cuff yöntemiyle kuyruk arterlerinden ölçüldü. Kuyruğa takılan halka şeklindeki basınç probuyla alınan sinyaller MP 150 veri toplama sistemi (BIOPAC Systems, CA-USA) ve MAY-BPHR 9610-PC (Commat Ltd, Ankara) ünitesi aracılığıyla bilgisayara aktarıldı ve ölçümler Acknowledge paket programıyla çizdirilen basınç traseleri üzerinden yapıldı. Tüm hayvanların deney öncesi bazal değerleri saptandıktan sonra kan basıncı takibine 2 haftada bir yapılan ölçümlerle deney sonuna kadar devam edildi.

Kuyruktaki arterlerden geçen kan akımının kısa bir süreliğine kesilmesi için havayla şişirilebilen, halka şeklindeki bir manşet (cuff) kullanıldı. Belli basınç sağlayacak düzeyde şişirilen manşetin otomatik olarak yavaşça söndürülmesiyle kan akımının tekrar başlaması sağlandı. Bu sırada, yine halka şeklindeki basınç probuyla belirlenebilen pulsasyonun basınç değeri saptandı. Bu yöntemdeki kan basıncının ölçüm prensibi insandaki kan basıncını kol arterinden ölçme yöntemindekiyle benzerdir.

Kuyruk arterlerindeki pulsasyonların daha kolay algılanması için hayvanlar her kan basıncı ölçümünden önce ısıtıldı ve arterlerin genişlemesi sağlandı. Tabandan ısıtılan ve nefes almayı engellemeyen, iç sıcaklığı 30°C'ye kadar çıkan genişçe bir kutuda 10-15 dakika bekletilen hayvanlar ölçüme alındı. Ölçümler oda sıcaklığında yapıldı ve kuyrukların ısıtılmasına yaklaşık 30 cm yüksekte bulunan 150 watt'lık kızılötesi ışınli lamba ile devam edildi. Periyodik ölçümler sırasında her sıçan için en az üç basınç trasesi kaydedildi ve belirlenen değerlerin ortalamasından o günkü kan basıncı değeri hesaplandı. Egzersiz gruplarındaki hayvanların kan basınçları son egzersizden en az 24 saat sonra ölçüldü.

### 3.4. Deneyin Sonlandırılması

Egzersiz gruplarındaki hayvanlara uygulanan son egzersizden 48 saat sonra deney sonlandırıldı. 6 haftalık deney süresinin sonunda hayvanlar feda edilip, tüm gruplardan doku örnekleri alındı.

Deney sonunda eter anestezisi ile uyutulup karınları açılan hayvanlar abdominal aortalarına kesi sonrası kansızlaştırılarak feda edildi. Hızlı bir şekilde mezenter yatak düğümlenerek çıkarıldı. Hayvanların her iki bacağındaki tüylü derinin kasla teması kesilip soyulduktan sonra dikkatli bir şekilde iki bacadaki gastoknemius kasları, damarların zedelenmeyeceği şekilde alındı. Ayrıca torasik aorta diğer dokulardan ayrılıp çıkartıldı. Bu dokular içinde Krebs solüsyonu (110 mM NaCl, 5 mM KCl, 24 mM NaHCO<sub>3</sub>, 1 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 2,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 10 mM glukoz, 0,02 mM EDTA) bulunan, buz üzerinde bekletilen küçük beherlere alındı. Ayrıca her iki bacadaki vastus lateralis kası çıkartılıp, kırmızı ve beyaz kısmı ayrıldıktan sonra kapaklı küçük bir tüp içerisinde sıvı nitrojene daldırılarak donduruldu ve sitrat sentaz aktivitesi ölçümünde kullanılmak üzere -

80°C’de saklandı. Krebs solüsyonuyla yıkanan örnekler ise damarları izole edebilmek için mikrodiseksiyon aşamasına geçildi.

Dokular soğuk Krebs solüsyonu içerisinde diseksiyon için uygun petrilere sabitlendi ve diseksiyon mikroskobu kullanılarak (OLYMPUS-SZ61) uygun büyütme derecesinde arter-ven ayırımı yapıldı. Gastocnemius kasını besleyen iletim tipi arterin 1. dalı (200-240 µm), mezenter damar yatağının 2. Dalı (200-220 µm) ve torasik aorta izole edildi. Bu damar segmentlerinin etrafındaki bağ ve yağ dokuları uzaklaştırıldı. Mezenter ve gastocnemiusa ait direnç damarları telli miyograf sistemine (EMKA Technologies, Paris-France), torasik aort halkaları ise organ banyosuna asılarak her üç damar içinde ortak deney protokolü izlendi.

#### **3.4.1. Telli Miyograf ve Organ Banyosu Çalışması**

2-2,5 mm’lik izole torasik aorta damar halkaları % 95 O<sub>2</sub>, % 5 CO<sub>2</sub> içeren gaz karışımı ile gazlandırılmış 37°C’de PH’sı 7.4 olan 20 ml krebs solüsyonu içeren organ banyosuna alındı. Damar halkaları çelik tellere asılarak gergin bir ip aracılığıyla izometrik transdüsere (FDT 1 A-10 MAY) bağlandı ve daha önceden belirlenen 1 gram istirahat gerilimi altında her 15 dakikada bir yıkanarak 60 dakika boyunca dinlendirildi.

Mezenter damar yatağına ait 2. dal rezistans arteri segmenti ve gastrocnemius kasının içerisine giren ve besleyici iletim tipi arterden ayrılan 1. dal rezistans arteri segmenti soğuk krebs solüsyonu bulunan diseksiyon ortamında izole edildi. Daha sonra boyu 2 mm’yi geçmeyen damar segmenti içerisinde 37°C’lik Krebs solüsyonu bulunan ve ortasında damarın miyografa yerleştirilmesine yardımcı olan özel bir düzeneği taşıyan petri kabına konuldu. 25 µm çapındaki tungsten telin bir ucu bu düzeneğe vidalanarak sabitlendi. Tel ince uçlu iki forseps yardımıyla damara herhangi bir hasar vermeksizin damarın içinden geçirildi. Özellikle telin damar lümeni içinden geçişi sırasında endotel tabakasına zarar vermemesine dikkat edildi. Telin serbest kalan ucu da vidalanıp sabitlendikten sonra ikinci bir tel damara zarar vermeden tek seferde damar lümeni boyunca ilerletildi ve böylece düzenek miyografa yerleştirilmeye hazır hale getirildi.

Hazırlanan düzenek sıcaklığı 37°C’de sabit tutulan ve 10 ml banyo hacmi bulunan miyograf haznesine yerleştirildi. Serbest tel uçları hem damar segmentine hem de izometrik kuvvet transdüsere herhangi bir mekanik kuvvet uygulamadan transdüsünün karşısında bulunan simetrik düzeneğe vidalanarak sabitlendi. Miyograf haznesi tüm çalışma protokolleri boyunca %5 CO<sub>2</sub> - %95 O<sub>2</sub> içeren gaz karışımıyla gazlandırıldı.

Damar segmenti bazal duvar gerimi hesaplanmadan önce 15 dakika boyunca organ banyosunda dinlendirildi. Mikroskop yardımıyla mikrometrik ölçüm skalası kullanılarak her damarın boyu ölçüldü. İki tel arasında belli dış damar çapı değerlerinde, damar duvarının oluşturduğu gerim kuvveti saptanarak bilgisayar yazılımı yardımıyla (Normalize v1.0, EMKA Technologies) çap-gerim grafiği çizdirildi. Bazal damar gerimini belirlemek için in-vivo şartlarda 90 mmHg kan basıncı değerinde oluşan gerim de yazılımla otomatik olarak hesaplandı. Sıcaklığı 37°C’de sabit tutulan banyo solüsyonu 15 dakikada bir değiştirilerek her damar

preparasyonu o örnek için saptanan bazal gerimde bir saat boyunca dinlenmeye bırakıldı.

Bir saatlik dinlenme periyodu sonrasında organ banyosunda asılı torasik aort halkaları ve telli miyograf sistemine asılı mezenter ve gastocnemiusa direnç damarları içinde ortak deney protokolü izlendi.

1 saatlik dinlenme periyodu ardından damarlar için bir ön-uyarılma sayılan vitalizasyon aşamasına geçildi. Bu işlem için 20 mM KCl içeren Krebs solüsyonuna ayrıca  $10^{-7}$  M konsantrasyonda Phe ilave edildi. Bu solüsyonla muamele edilen damarların 3 defa kasılması sağlandı ve damarlar her uygulamadan sonra normal Krebs solüsyonuyla yıkandı. Vitalizasyon aşamasından sonra 30 dk dinlenme periyodu uygulandı.

Dinlenme periyodunu takiben damar lümeninin iç yüzünü döşeyen endotel tabakasının sağlıklı olup olmadığı araştırıldı.  $10^{-6}$  M Phe ile kastırılan damara aynı konsantrasyonda asetilkolin (A6625) uygulanarak, gevşeme cevabının yüzde olarak büyüklüğü saptandı. %60 ve üzerinde gevşeme cevabı veren damarlar endotel pozitif olarak değerlendirildi. %60'ın altında gevşeme yanıtı veren damarlar ise deney protokolüne alınmadı (Bizim çalışmamızda kullandığımız damarların hepsi %70 ile %90 arasında gevşeme gösterdiler).

Deney protokolünün bundan sonraki her aşaması banyo solüsyonuna eklenen spesifik olmayan NOS inhibitörü L-NAME (1 mM) varlığında değerlendirildi. Bu tüm CO çalışmalarında ortamda NO uzaklaştırılarak, yalnızca CO'nun etkisini gözlemlemek için yapılan rutin bir uygulamadır. Bu aşamaya kadar aynı işlemlere maruz kalan damarlar için bundan sonra aşağıda tarif edilen protokoller uygulandı. Birbirini takip eden uygulamaların aralarında 30 dk dinlenme periyodu bırakıldı.

**Endojen CO yanıtları.** Damarların kümülatif olarak  $10^{-9}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M dozda Phe'e (Sigma P6126) karşı kasılma yanıtları kaydedildi. Daha sonra damarlar 30 dakika boyunca HO inhibitörü chromium mesoporphyrin (CrMP; 30  $\mu$ M) (Frontier CrMP459) ile inkübe edildikten sonra Phe doz yanıtları tekrar alındı. CrMP inkübasyonu sonrası Phe yanıtı artışı, CO'nun damar tonusuna katkı oranını göstermektedir.

**Ekzojen CO yanıtları.** Öncelikle damarlara  $3 \times 10^{-6}$  M Phe verilerek submaksimal kasılma yanıtı elde edildi. Ardından damarların kümülatif Tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer (CORM, carbon monoxide-releasing molecule,  $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2]_2$ ) (Aldrich 288144) dozlarına ( $10^{-9}$  –  $3 \times 10^{-4}$  M) verdikleri gevşeme yanıtları kaydedildi.

CO damarlarda gevşeme etkisini cGMP ve  $\text{Ca}^{+2}$  bağımlı  $\text{K}^+$  kanalları aracılığıyla gerçekleştirdiğinden dolayı deney protokolümüzde CO'nun etki mekanizmasını ortaya koymak için CORM'un artan dozlarına verilen gevşeme yanıtları, selektif sGC inhibitörü 1H-[1,2,4]Oxadiazolo[4,3-a] quinoxalin-1-one (ODQ;  $10^{-5}$  M, 30 dk) (Sigma A0168), ve non selektif K kanal blokörü

tetrahyllammonium chloride (TEA;  $10^{-2}$  M, 30 dk) (Fluka 86611) varlığında da alındı.

### 3.5. Sitrat Sentaz Aktivitesi Ölçümü

Sıçanlara yaptırılan egzersizin etkili olduğunun göstergesi olarak ve bu süreçte antrene olduklarını kanıtlamak için vastus lateralis kasının kırmızı kas liflerinde sitrat sentaz enzim aktivitesi ölçüldü. Yöntem; asetil CoA ve oksaloasetik asidin, sitrat sentaz varlığında sitrat ve CoA-SH'a, 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 dayanır (168).

#### Kullanılan solüsyonlar:

Tris tamponu (pH: 8) : 100 mM  
Fosfat tamponu (pH: 7,4) : 100 mM  
Asetil CoA (Sigma A2056) : 3 mM  
Oksaloasetik (Sigma O-4126): 5 mM  
DNTB (Sigma D8130) : 1 mM

#### 3.5.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması

Sitrat sentaz aktivitesi tayini için  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan vastus lateralis kas örneklerinin buz üzerinde çözünmesi sağlanıp, yaş ağırlıkları kaydedildi ve sonra örnekler bir bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. Fosfat tamponu ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 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.

#### 3.5.2. Doku Örneklerinin Çalışılması

Tris tamponu (100  $\mu\text{l}$ ), Asetil CoA (50  $\mu\text{l}$ ), DTNB (100  $\mu\text{l}$ ) ve homojenat (50  $\mu\text{l}$ ) karışımı  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dakika süreyle inkübe edildi. Süre tamamlandığında karışıma oksaloasetik asitik (100  $\mu\text{l}$ ) eklenerek, spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda ilk okuma gerçekleştirildi.  $37^{\circ}\text{C}$ '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 hesaplandı, sonuçlar  $\mu\text{M.g}$  yaş doku $^{-1}. dakika $^{-1}$  ( $\mu\text{M.gyd}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ ) olarak verildi.$

### 3.6. Western Blot Analizi

#### 3.6.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması

HO-1 ve HO-2 proteinlerinin tayini için  $80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan torasik aortun, gastroknemius kası direnç damarlarının ve mezenter yatak direnç damarlarının buz üzerinde çözülmesi sağlandı ve aynı grupta yer alan hayvanların damarları üçlü gruplar oluşturacak şekilde birleştirildi. Damar örnekleri daha etkili bir homojenizasyon için, buz üstünde küçük parçalara ayrıldı. 0,2 g doku için 600  $\mu\text{l}$  lysis tamponu ve 1 ml lysis tampon için 50  $\mu\text{l}$  proteaz inhibitör kokteyl (Sigma-9417) eklenip vortekslendikten sonra 1 saat boyunca bekletildi. Karışım 10 saniyelik sonikasyonun ardından 25 dk-15000 rpm'de  $+4^{\circ}\text{C}$  de santrifüj edilerek süpernatant

ayrıldı ve ticari protein kiti ile protein analizi yapıldı (Pierce-23236). Aynı miktarda protein içeren örneklere 5x laemli eklendi, örnekler 5dk 95-100°C'lik suda kaynatıldı ve kısa bir santrifüjden (5 dk-8000 rpm) sonra örnekler yüklemeye hazır hale geldi.

### 3.6.2. Elektroforez ve Blotlama İşlemleri

%12,5'lük sodyum dodesil sulfat (SDS) poliakrilamid jel hazırlanarak önceden yerleştirilmiş olan camların arasına döküldü. Jel donduktan sonra Moleküler ağırlık standardı (Fermentas SM0441) ve 100 µg protein içeren örnekler jel kuyucuklarına pipet yardımıyla yüklendi. 3 saat süresince 80 volt'ta elektroforez yapıldı. Jelde moleküler ağırlıklarına göre ayrılmış proteinlerin PVDF membrana (Biorad 162-0177) transferi için transfer sandviçi hazırlandı. Transfer işlemi +4°C'de, 2,5 saat 250mA akım uygulanarak gerçekleştirildi. Elektroblot uygulamasıyla proteinler PVDF membrana aktarıldıktan sonra, membran % 5'lik süttozu (Biorad-170-6404) içeren TBS-T (%0,1 Tween-20içeren TBS) tamponu kullanılarak 1 saat 22°C'de inkübe edildi.

Primer antikor uygulamasından önce PVDF membranlar TBS-T solüsyonu ile 30 dk boyunca 4 kez tazelenen tampon ile yıkandı. Membranlar %5'lik süttozu içeren 1:1000 oranında seyreltilmiş HO-1 ve HO-2 primer antikorarı (StressGen, OSA-110F, OSA-200E) veya 1:500 dilüsyonda hazırlanmış β-aktin (Abcam ab16039) içeren solüsyon ile gece boyunca, 4°C'de, çalkalayıcı üzerinde inkübe edildi. Ardından membranlar TBS-T ile 30 dk boyunca 4 kez yıkandı ve 1:80000 oranında seyrelmiş horseradish peroksidaz bağlı sekonder antikor (Sigma A0168, Sigma A2074) içeren TBS-T solüsyonu ile 1 saat oda sıcaklığında çalkalanarak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası membranlar 30 dk boyunca 4 kez TBS-T ile yıkandı ve görüntülemeye hazır hale getirildi.

### 3.6.3. Görüntüleme ve Değerlendirme

Sekonder antikorla konjuge peroksidaz enziminin, kemiluminisans oluşturan ürünü için substrat içeren ECL reaksiyon karışımı (Amersham-RPN2132), PVDF membranların (Biorad-162-0177) üzerine uygulandı. 5 dk bekleme sürecinden sonra fotoğraf filmi (Amersham 28-9068-36) kullanılarak spesifik antikor bağlanmalarının yeri film üzerinde belirlendi.

Görüntülerin yarı-kantitatif analizi için bilgisayar ortamına aktarılan film paternleri bilgisayar yazılımı yardımıyla değerlendirildi (image J paket programı). Sonuçlar HO-1/β-aktin, HO-2/β-aktin şeklinde β-aktin proteinin miktarına oranlanarak ayrı ayrı hesaplanarak ifade edildi.

### 3.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi. Tekrarlı olmayan verilerin istatistiksel değerlendirmesinde tek yönlü varyans analizi, tekrarlayan ölçümlerle elde edilen farklı ajan dozlarındaki kasılma/gevşeme cevaplarının değerlendirilmesinde 2 yönlü varyans analizi kullanıldı. Varyans analizleri sonrası gruplar arası karşılaştırma Newman-Keuls testi kullanılarak yapıldı. İstatistiksel önemlilik derecesi p<0,05 olarak kabul edildi.



## BULGULAR

### 4.1. Vücut Ağırlığı ve Su Tüketimi

Deneye alınma sırasında 280-300 g vücut ağırlığına sahip olan hayvanlar gruplara homojen dağıtıldı. Grupların deneyin sonunda feda edilmeden hemen önce ölçülen vücut ağırlıkları Tablo 4.1.'de sunulmuştur. Grupların ortalama vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir.

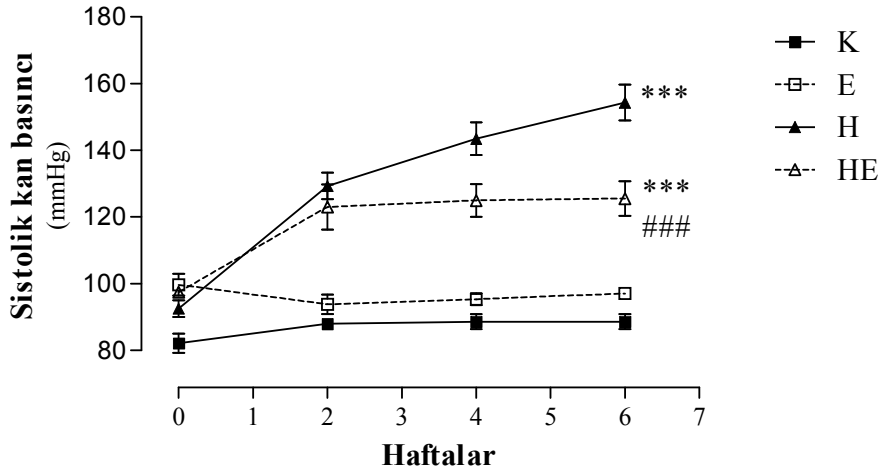
Hipertansif gruplardaki sıçanların 6 hafta boyunca günde 25 mg/kg dozunda L-NAME almalarını sağlamak amacıyla, hayvanların günlük içme suyu miktarları takip edildi. Su tüketimleri yönünden gruplar arasında fark saptanmadı.

Tablo 4.1. Su tüketimi ve vücut ağırlıkları

Protokol	K	E	H	HE
Vücut ağırlığı (g)	390 ± 15,8	368,4 ± 11,6	355,1 ± 11,7	350 ± 8,5
Su tüketimi (ml/gün)	34,5 ± 1,1	38,3 ± 1,4	34,6 ± 0,7	35,5 ± 0,7

### 4.2. Kan Basıncı

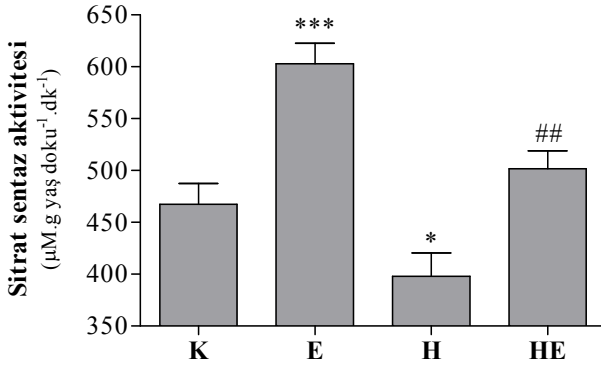
6 haftalık deney süreci boyunca 2 haftalık aralıklarla ölçülen sistolik kan basıncı değerleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Bazal kan basıncı değerleri gruplar arasında farklı değildi. Hipertansif gruplardaki değerler 2. haftadan itibaren deney sonuna kadar kontrol grubuna göre anlamlı yüksekti ( $p < 0,001$ ). Ayrıca yaptırılan düzenli yüzme egzersizi sonucu HE grubu kan basınçları H grubuna göre anlamlı olarak daha düşük saptadı (4. hafta için  $p < 0,01$ ; 6. hafta için  $p < 0,001$ ).



Şekil 4.1. Sistolik kan basıncı değerleri (mmHg). K grubundan fark, \*\*\*  $p < 0,001$ ; ### H grubundan fark  $p < 0,001$

### 4.3. Sitrat Sentaz Aktivitesi

Sıçanlardan alınan vastus lateralis kasının kırmızı kas liflerinde sitrat sentaz enzim aktivitesi sonuçları Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Egzersiz yapmayan hayvanlardan K grubunda sitrat sentaz aktivitesi  $467,5 \pm 19,94 \mu\text{M.g yaş doku}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ , H grubunda ise  $397,8 \pm 22,65 \mu\text{M.g yaş doku}^{-1}.\text{dk}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Bu değerler egzersiz yaptırılan hayvanlardan E grubunda  $602,9 \pm 19,59 \mu\text{M.g yaş doku}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ , HE grubundaysa  $501,7 \pm 17,2 \mu\text{M.g yaş doku}^{-1}.\text{dk}^{-1}$  değerine yükselmiştir. E grubunun K grubundan farkı  $p < 0,001$  düzeyinde, HE grubunun H grubundan farkı  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı bulunmuştur. H grubunun sitrat sentaz aktivitesi ise K grubundan  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olacak şekilde daha düşük saptanmıştır.

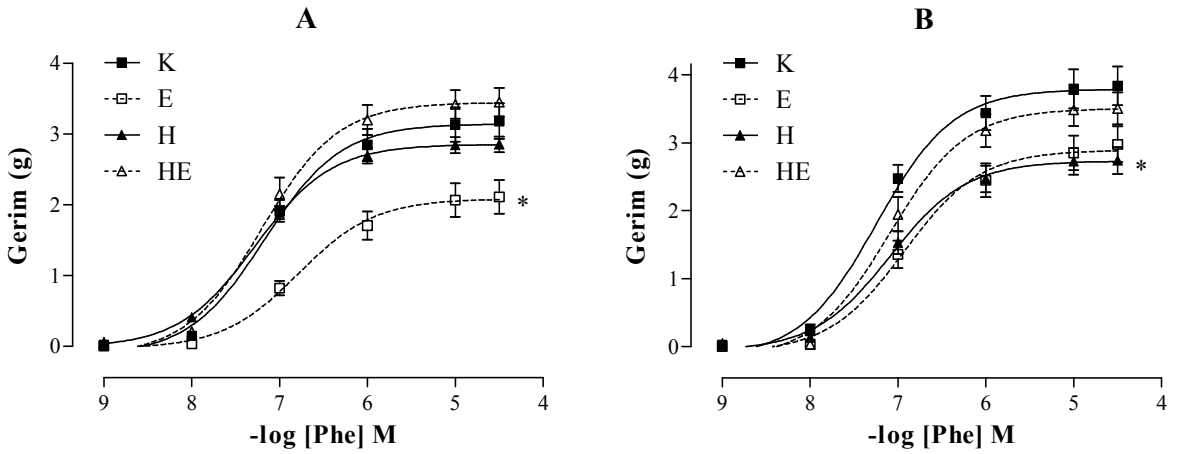


Şekil 4.2. Vastus lateralis kasında sitrat sentaz aktivitesi. K grubundan fark, \*\*\*  $p < 0,001$ ; H grubundan fark, ##  $p < 0,01$

### 4.4. Torasik Aort Yanıtları

#### 4.4.1. Torasik Aort’un Endojen CO Yanıtları

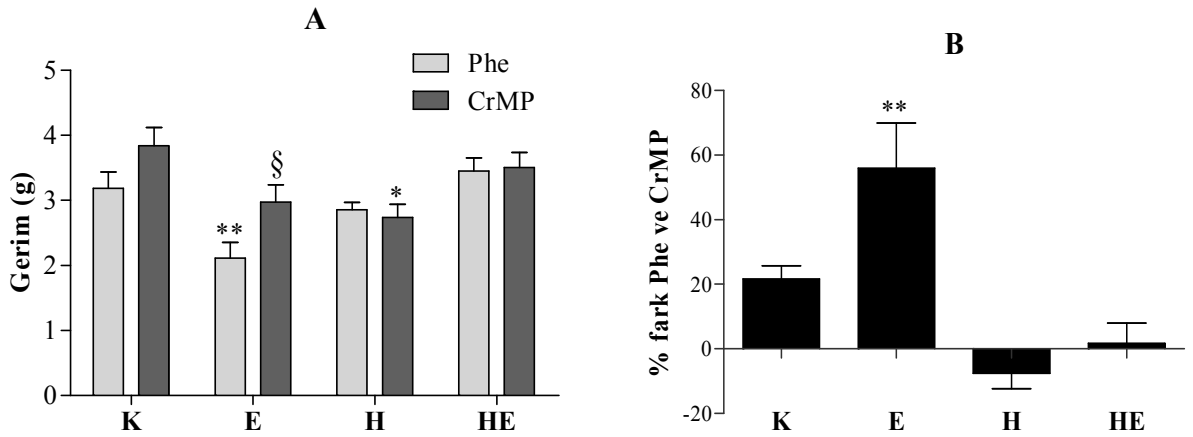
Torasik Aort halkalarında endojen CO yanıtlarının alındığı protokolden elde edilen doz-yanıt eğrileri Şekil 4.3’de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Torasik aort halkalarının Phe ( $10^{-9}$ – $3 \times 10^{-5}$  M) doz-cevap eğrileri, A. Bazal şartlarda, B. HO inhibitörü CrMP varlığında. K grubundan fark, \*  $p < 0,05$

Grupların Phe'e verdikleri kasılma yanıtlarında tekrarlayan ölçümler için iki yönlü varyans analizi sonucu doz yanıt eğrileri arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı ( $p<0,05$ ). Grupların Phe'e verdikleri maksimal kasılma yanıtlarına bakıldığında da (Şekil 4.4 ve Tablo 4.2) gruplar arası anlamlı fark gözlemlendi. Her iki değerlendirme sonrası uygulanan post-hoc testi sonucu E grubu kasılma yanıtı, K grubuna göre  $p<0,01$  düzeyinde anlamlı olacak şekilde daha düşüktü. K ve H grubu ile H ve HE grupları arasında ise bir farklılık saptanmadı.

Torasik aort halkalarındaki endojen CO'nun vasküler tonusa katkısını göstermek için, HO inhibitörü CrMP ile inkübasyon sonrası alınan Phe kasılma doz yanıt sonuçları ve maksimal kasılma değerleri Şekil 4.4 ve Tablo 4.2'de gösterilmiştir. CrMP inkübasyonu ile CO oluşumu engellendiğinde, kontrol grubunun Phe'e verdikleri Emax yanıtı  $\% 21,6 \pm 4,1$  düzeyinde artarken, düzenli yüzme egzersizleri sonucu E grubunda artış  $\% 55,9 \pm 13,9$  düzeyinde oldu. Bu artış kontrol grubuna göre anlamlı daha yüksek idi ( $p<0,01$ ). Hem egzersiz yapan hem de sedanter tutulan her iki hipertansif grupta ise CrMP inkübasyonu sonrası Phe kasılma yanıtlarında anlamlı değişiklikler saptanmadı.



**Şekil 4.4.** Torasik aort halkalarının maksimal kasılma yanıtları, **A.** Tüm grupların kasılma protokollerinden alınan Emax değerleri, **B.** Bazal şartlarda ve HO inhibitörü CrMP varlığında Emax değerlerinin % farkı. K grubundan fark, \*  $p<0,05$ ; Phe ve Phe + CrMP yanıtları arasındaki fark, §  $p<0,05$

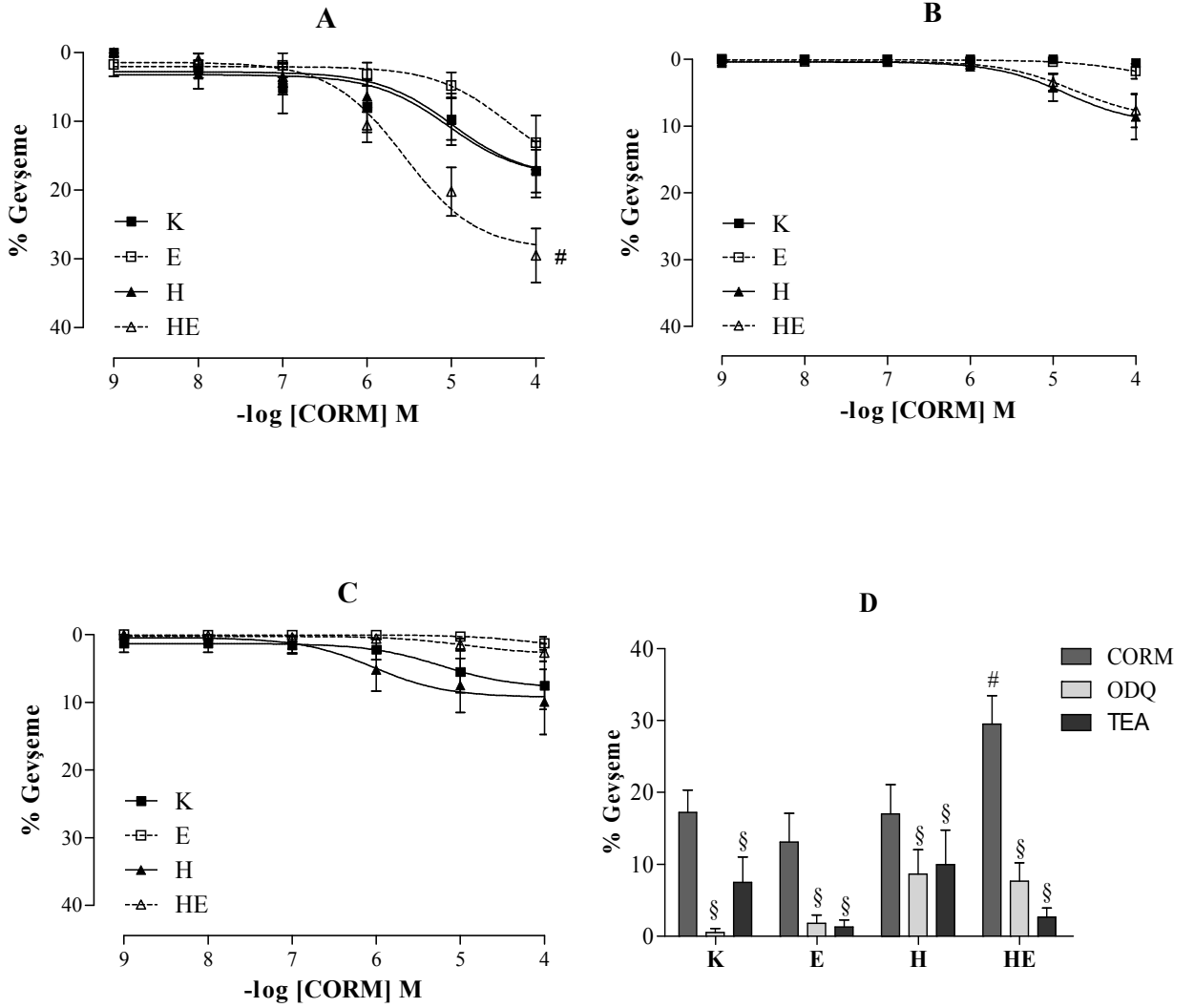
**Tablo 4.2.** Torasik aort halkalarının maksimal kasılma yanıtları (Emax).

Protokol	K	E	H	HE
Phe (g)	3,18 ± 0,25	2,11 ± 0,24 **	2,86 ± 0,11	3,45 ± 0,20
Phe + CrMP (g)	3,84 ± 0,29	2,98 ± 0,26	2,74 ± 0,20 *	3,51 ± 0,23

K grubundan fark, \*\*  $p<0,01$

#### 4.4.2. Torasik Aort'un Ekzojen CO Yanıtları

Torasik aort halkalarında ekzojen CO yanıtlarının alındığı protokolden elde edilen doz-yanıt eğrileri ve maksimal doz yanıtlarının bar grafiği Şekil 4.5'de gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Torasik aort halkalarının CORM ( $10^{-9}$ – $10^{-4}$  M) doz-cevap eğrileri ve maksimal gevşeme yanıtları, **A.** Bazal şartlarda, **B.** sGC inhibitörü ODQ varlığında, **C.** K<sup>+</sup> kanal inhibitörü TEA varlığında, **D.** Tüm grupların gevşeme protokollerden alınan Emax değerlerinin % farkı. H grubundan fark, # p<0,05; CORM ve CORM + ODQ, CORM ve CORM + TEA yanıtları arasındaki fark, § p<0,05

CO donörü CORM'a grupların yanıtları incelendiğinde, K ve E, ayrıca K ve H yanıtları arasında bir farklılık bulunamadı. Altı hafta boyunca düzenli yüzme egzersizi yapan hipertansif HE grubunun hem doz-yanıt eğrisi hem de Emax yanıtının H grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek idi (p<0,05). sGC inhibitörü ODQ ve K<sup>+</sup> kanal inhibitörü TEA'nın inkübasyonları sonucu alınan CORM yanıtlarının her grupta anlamlı düzeyde baskılandığı, ama gruplar arası fark olmadığı gözlemlendi.

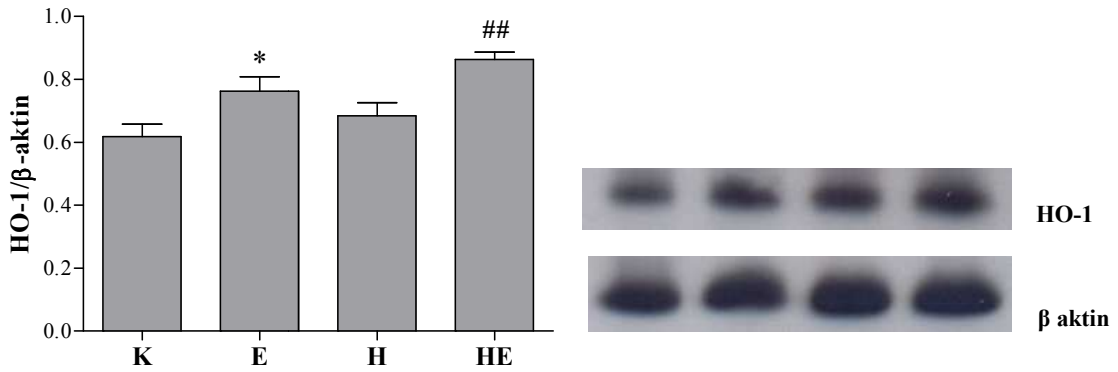
**Tablo 4.3.** Torasik aort halkalarının maksimal yüzde gevşeme yanıtları (Emax).

Protokol	K	E	H	HE
CORM (%)	17,25 ± 3,09	13,11 ± 3,96	17,01 ± 4,07	29,53 ± 3,92 #
ODQ (%)	0,56 ± 0,54	1,83 ± 1,11	8,67 ± 3,39	7,69 ± 2,54
TEA (%)	7,53 ± 3,54	1,30 ± 0,97	9,98 ± 4,81	2,67 ± 1,26

H grubundan fark, # p<0,05

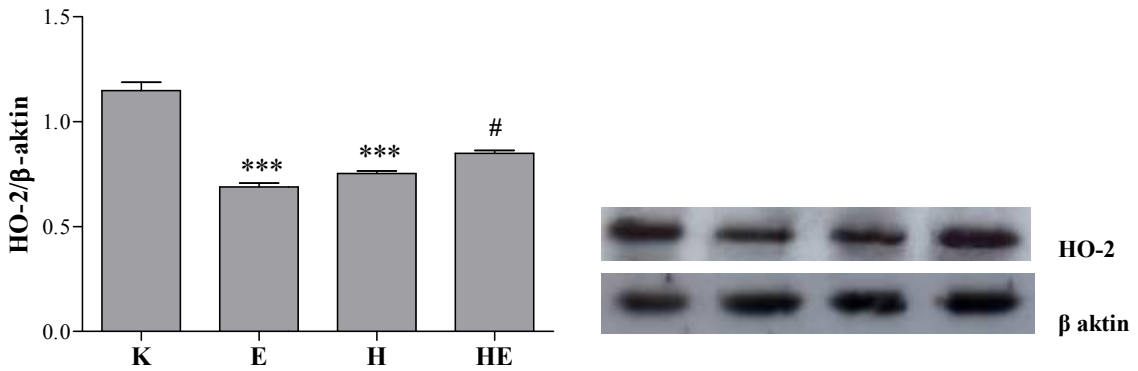
#### 4.4.3. Torasik Aort Damarlarında HO-1 ve HO-2 Ekspresyonu

Torasik aort damarlarından elde edilen örneklerde ölçülen HO-1 protein düzeyleri, aynı dokuda ölçülen  $\beta$ -aktin miktarına oranlanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde fiziksel aktivite yaptırılan E grubunda ( $0,76 \pm 0,04$ ), K grubuna ( $0,62 \pm 0,04$ ) göre önemli artış bulundu ( $p<0,05$ ). HE ( $0,86 \pm 0,02$ ) grubunda ise H ( $0,68 \pm 0,04$ ) grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artış saptandı ( $p<0,01$ ). H grubundaki sonuçlar ise K grubundakilerden istatistiksel olarak farklı değildi. HO-1 ekspresyonu sonuçları Şekil 4.6’da sunulmuştur.



**Şekil 4.6.** Torasik aort damarlarında HO-1 ekspresyonu, K grubundan fark, \* p<0,05, H grubundan fark ## p<0,01

E ( $0,69 \pm 0,01$ ) ve H ( $0,75 \pm 0,02$ ) gruplarındaki HO-2 ekspresyonlarında K grubuna ( $1,148 \pm 0,04$ ) göre önemli düşüş bulundu ( $p<0,001$ ). HE ( $0,85 \pm 0,01$ ) grubunda ise H grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artış saptandı ( $p<0,05$ ). HO-2 ekspresyonu sonuçları Şekil 4.7’de sunulmuştur.

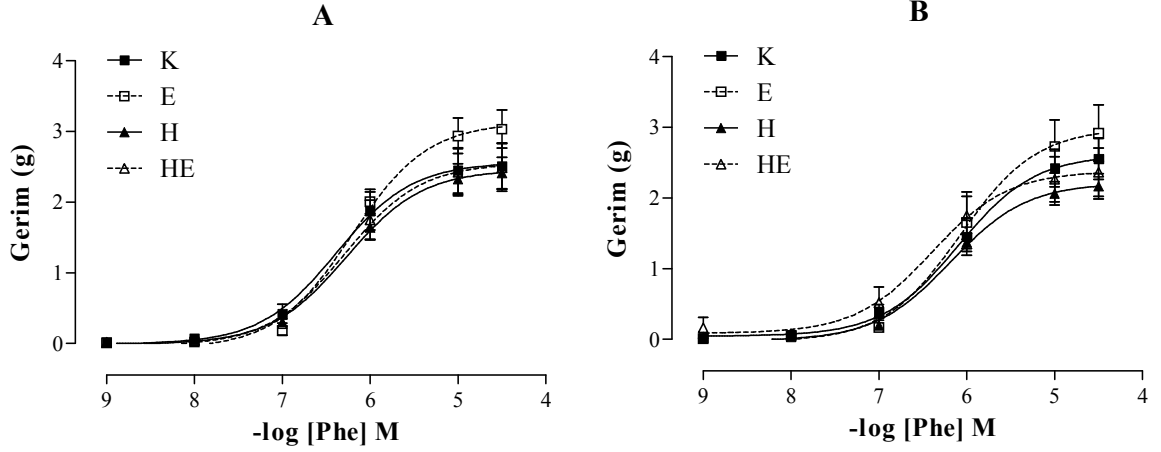


**Şekil 4.7.** Torasik aort damarlarında HO-2 ekspresyonu, K grubundan fark, \*\*\* p<0,001; H grubundan fark, # p<0,05

## 4.5. Gastroknemius Direnç Damarları Yanıtları

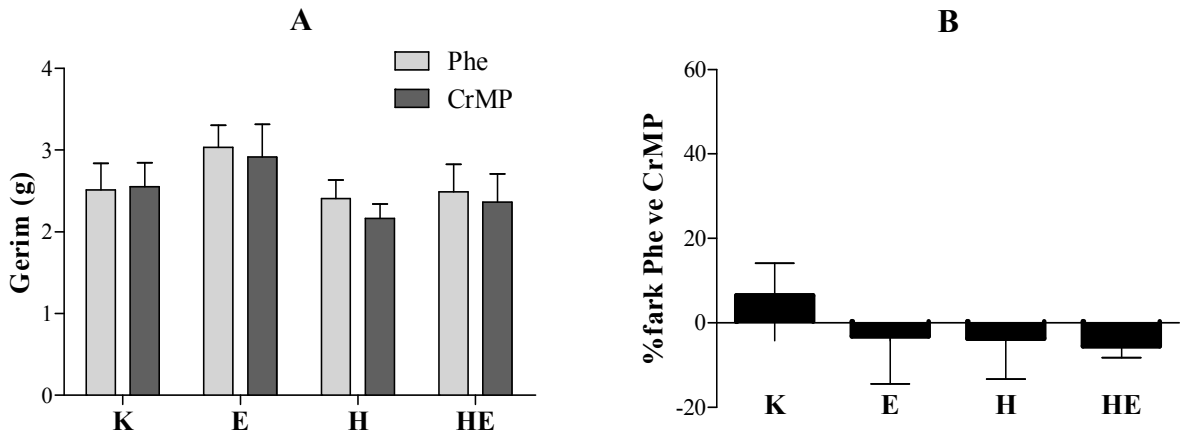
### 4.5.1 Gastroknemius Direnç Damarlarının Endojen CO Yanıtları

Gastroknemius direnç damarlarının endojen CO yanıtlarının alındığı protokolden elde edilen doz-yanıt eğrileri Şekil 4.8.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. Gastroknemius direnç damarlarının Phe ( $10^{-9}$ – $3 \times 10^{-5}$  M) doz-cevap eğrileri, A. Bazal şartlarda, B. HO inhibitörü CrMP varlığında.

Gastroknemius direnç damarlarının Phe'ye kasılma yanıtları ve endojen CO'nun varlığını göstermek için CrMP inkübasyonu sonrası Phe yanıtları hem kümülatif doz yanıt eğrilerinde hem de Emax değerleri açısından gruplar arasında farklılık göstermedi. Phe ve CrMP inkübasyonu sonrası Phe yanıtlarının grup içi kıyaslamalarında da bir farklılık olmaması bu damar segmentinde endojen üretilen CO'nun yeri olmadığını gösterdi.



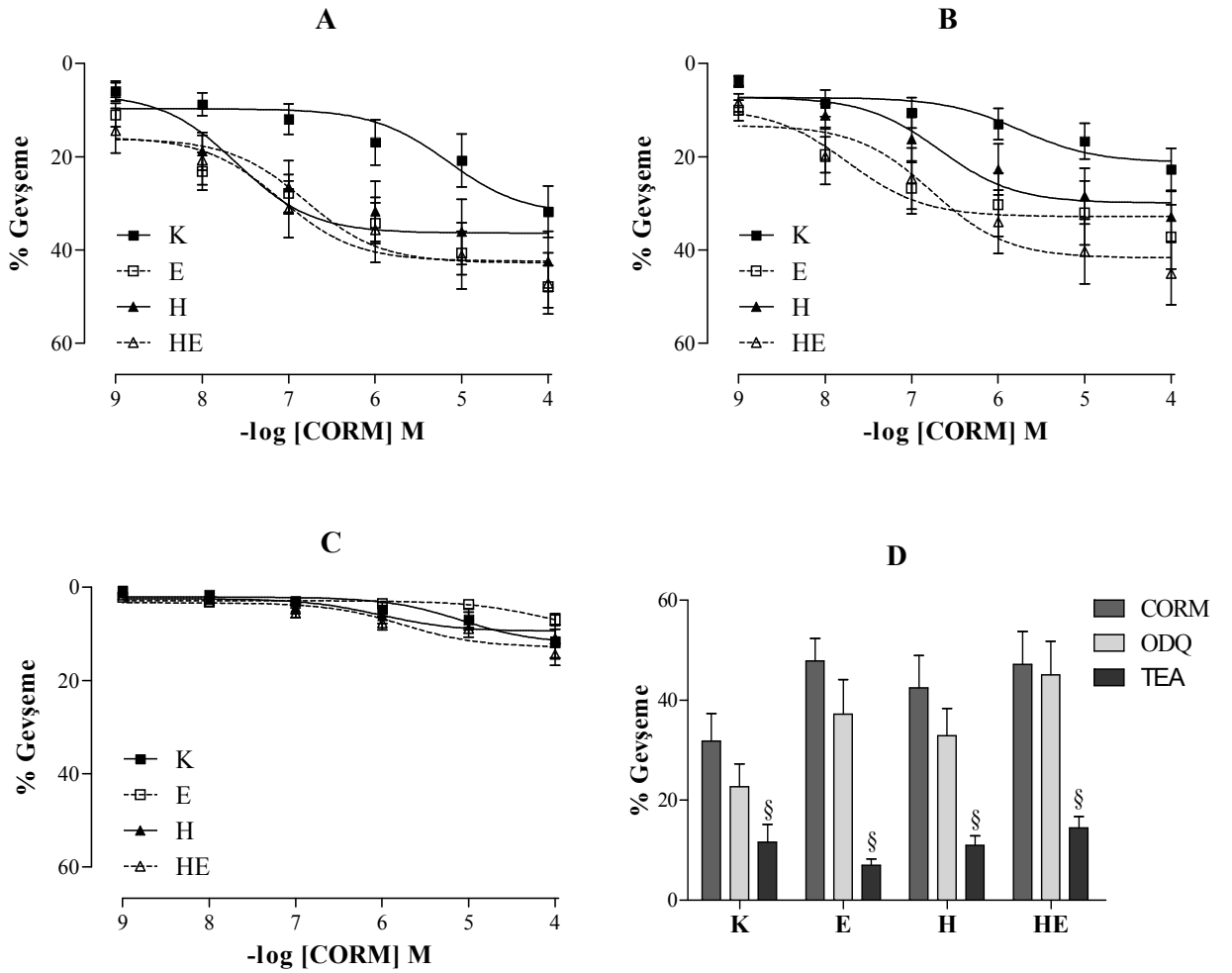
Şekil 4.9. Gastroknemius direnç damarlarının maksimal kasılma yanıtları, A. Tüm grupların kasılma protokollerinden alınan Emax değerleri, B. Bazal şartlarda ve HO inhibitörü CrMP varlığında Emax değerlerinin % farkı.

**Tablo 4.4.** Gastroknemius direnç damarlarının maksimal kasılma yanıtları ( $E_{max}$ ).

Protokol	K	E	H	HE
Phe (g)	2,52 ± 0,33	3,03 ± 0,27	2,41 ± 0,23	2,49 ± 0,34
Phe + CrMP (g)	2,55 ± 0,29	2,92 ± 0,40	2,16 ± 0,18	2,37 ± 0,34

#### 4.5.2 Gastroknemius Direnç Damarlarının Ekzojen CO Yanıtları

Gastroknemius direnç damarlarının ekzojen CO yanıtlarının alındığı protokolden elde edilen doz-yanıt eğrileri ve maksimal doz yanıtlarının bar grafiği Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



**Şekil 4.10.** Gastroknemius direnç damarlarının CORM ( $10^{-9}$ – $10^{-4}$  M) doz-cevap eğrileri ve maksimal gevşeme yanıtları, **A.** Bazal şartlarda, **B.** sGC inhibitörü ODQ varlığında; **C.**  $K^{+}$  kanal inhibitörü TEA varlığında, **D.** Tüm grupların gevşeme protokollerinden alınan  $E_{max}$  değerlerinin % farkı. CORM ve CORM + ODQ, CORM ve CORM + TEA yanıtları arasındaki fark, §  $p < 0,05$

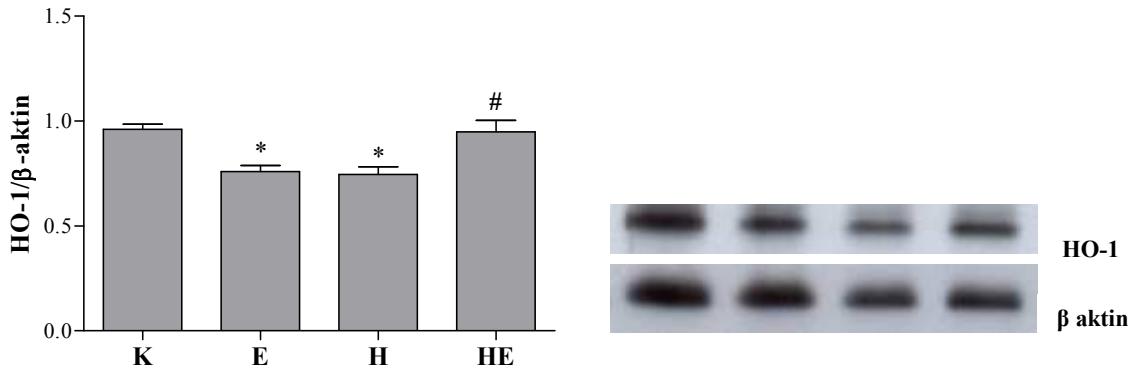
Grupların CO donörü CORM'a verdiği doz-yanıt eğrileri ve Emax yanıtları arasında bir farklılık yoktu. CO'un etki mekanizmasını ortaya koymak için sGC inhibitörü ODQ inkübasyonu sonucu grupların CORM yanıtlarında bir değişiklik olmadı. K<sup>+</sup> kanalı TEA inhibitör ile inkübasyon sonrası, tüm grupların CORM yanıtları baskılandı (p<0,05).

**Tablo 4.5.** Gastroknemius direnç damarlarının maksimal yüzde gevşeme yanıtları (E<sub>max</sub>).

Protokol	K	E	H	HE
CORM (%)	31,82 ± 5,51	47,86 ± 4,48	42,46 ± 6,44	47,20 ± 6,55
ODQ (%)	22,72 ± 4,54	37,22 ± 6,90	32,91 ± 5,43	45,07 ± 6,7
TEA (%)	11,63 ± 3,55	7,00 ± 1,24	10,95 ± 1,94	14,50 ± 2,30

#### 4.5.3. Gastroknemius Direnç Damarlarında HO-1 ve HO-2 Ekspresyonu

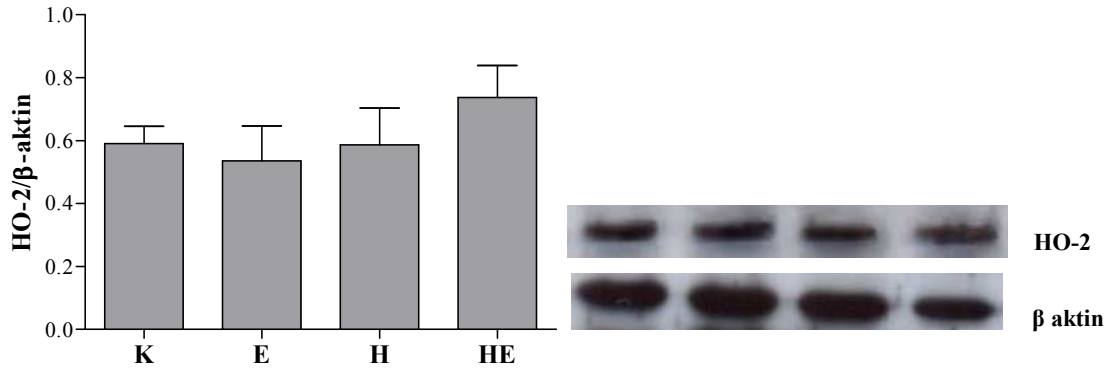
Gastroknemius direnç damarlarından elde edilen örneklerde ölçülen HO-1 protein düzeyleri, aynı dokuda ölçülen β-aktin miktarına oranlanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde egzersiz protokolünü uygulanan grupta (0,76 ± 0,03) ve H (0,75 ± 0,04) grubunda K grubuna (0,96± 0,02) göre önemli düşüş bulundu (p<0,05). HE (0,95± 0,05) grubunda ise H grubuna kıyasla önemli düzeyde artış saptandı (p<0,05). Gastroknemius direnç damarlarındaki HO-1 ekspresyonu sonuçları Şekil 4.11'de sunulmuştur.



**Şekil 4.11.** Gastroknemius direnç damarlarında HO-1 ekspresyonu.  
K grubundan fark, \* p<0,05; H grubundan fark, # p<0,05

Egzeriz yapan hipertansif gruptaki (0,74 ± 0,1) HO-2 ekspresyonlarında H grubuna (0,59 ± 0,1) kıyasla artış saptansa da anlamlı değildi. H ve E (0,54± 0,1) gruplarında K (0,59± 0,05) grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı. HO-2 ekspresyonu sonuçları Şekil 4.12'de sunulmuştur.



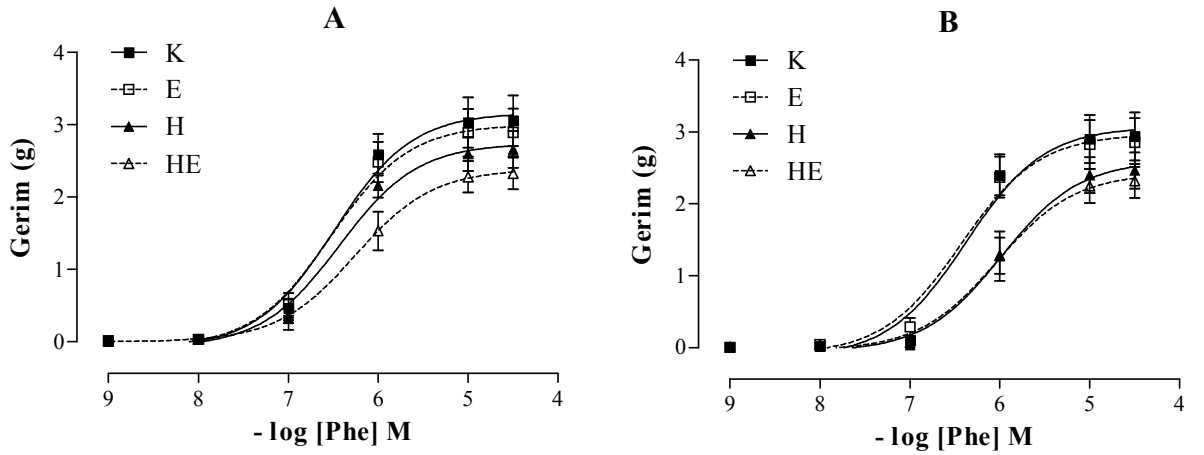


Şekil 4.12. Gastrocnemius direnç damarlarında HO-2 ekspresyonu.

#### 4.6. Mezenter Yatak Direnç Damarları Yanıtları

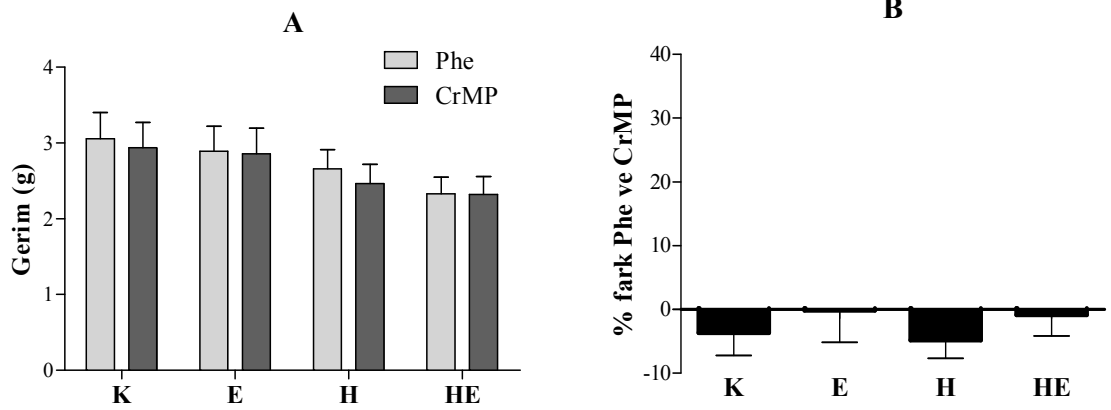
##### 4.6.1 Mezenter Yatak Direnç Damarlarının Endojen CO Yanıtları

Mezenter yatak direnç damarlarının endojen CO yanıtlarının alındığı protokolden elde edilen doz-yanıt eğrileri Şekil 4.13’de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Mezenter yatak direnç damarlarının Phe ( $10^{-9}$ – $3 \times 10^{-5}$  M) doz-cevap eğrileri, A. Bazal şartlarda, B. HO inhibitörü CrMP varlığında.

Mezenter yatak direnç damarlarının Phe’ye kasılma yanıtları ve endojen CO’nun varlığını göstermek için CRMP inkübasyonu sonrası Phe yanıtları hem kümülatif doz yanıt eğrilerinde hem de Emax değerleri açısından gruplar arasında farklılık göstermedi. Phe ve CRMP inkübasyonu sonrası Phe yanıtlarının grup içi kıyaslamalarında da bir farklılık olmaması bu damar segmentinde endojen üretilen CO’in yeri olmadığını gösterdi.



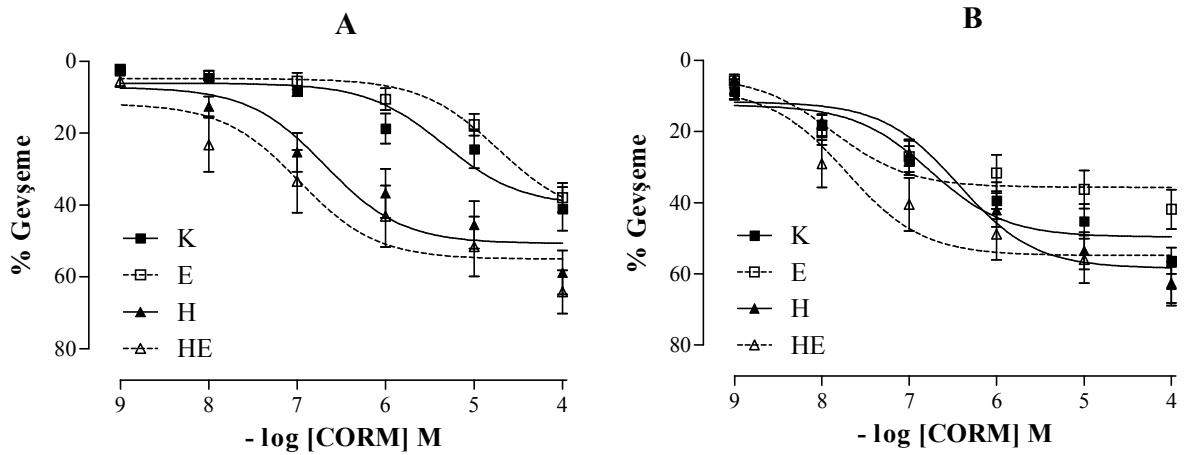
**Şekil 4.14.** Mezenter yatak direnç damarlarının maksimal kasılma yanıtları, **A.** Tüm grupların kasılma protokollerinden alınan  $E_{max}$  değerleri, **B.** Bazal şartlarda ve HO inhibitörü CrMP varlığında  $E_{max}$  değerlerinin % farkı.

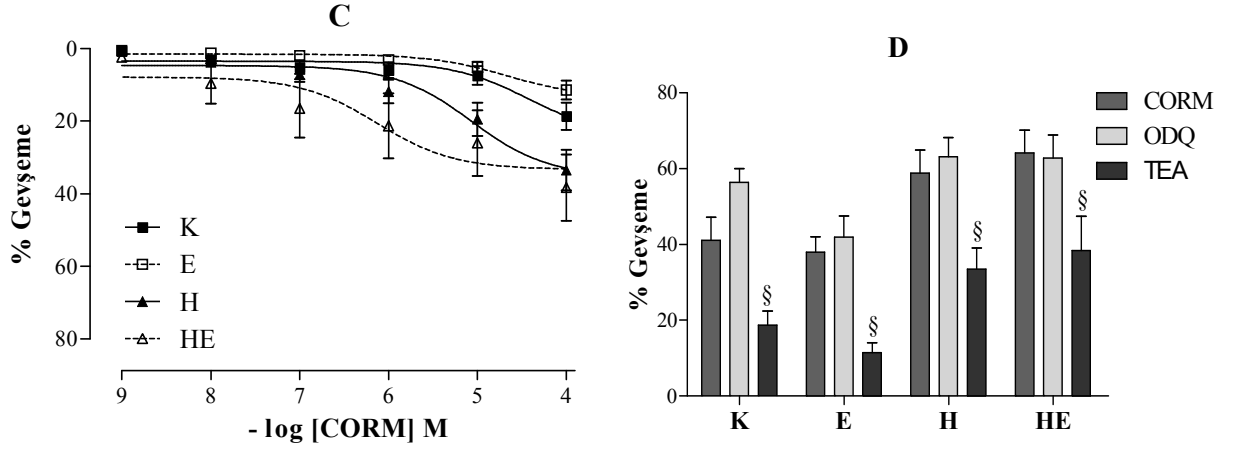
**Tablo 4.6.** Mezenter yatak direnç damarlarının maksimal kasılma yanıtları ( $E_{max}$ ).

Protokol	K	E	H	HE
Phe (g)	3,05 ± 0,35	2,89 ± 0,33	2,66 ± 0,25	2,33 ± 0,22
Phe + CrMP (g)	2,94 ± 0,33	2,86 ± 0,33	2,47 ± 0,25	2,32 ± 0,24

#### 4.6.2 Mezenter Yatak Direnç Damarlarının Ekzojen CO Yanıtları

Mezenter yatak direnç damarlarının ekzojen CO yanıtlarının alındığı protokolden elde edilen doz-yanıt eğrileri ve maksimal doz yanıtlarının bar grafiği Şekil 4.15'de gösterilmiştir.





**Şekil 4.15.** Mezenter yatak direnç damarlarının CORM ( $10^{-9}$ – $10^{-4}$  M) doz-cevap eğrileri ve maksimal gevşeme yanıtları, **A.** Bazal şartlarda, **B.** sGC inhibitörü ODQ varlığında, **C.**  $K^+$  kanal inhibitörü TEA varlığında, **D.** Tüm grupların gevşeme protokollerinden alınan  $E_{max}$  değerlerinin % farkı. CORM ve CORM + ODQ, CORM ve CORM + TEA yanıtları arasındaki fark, §  $p < 0,05$

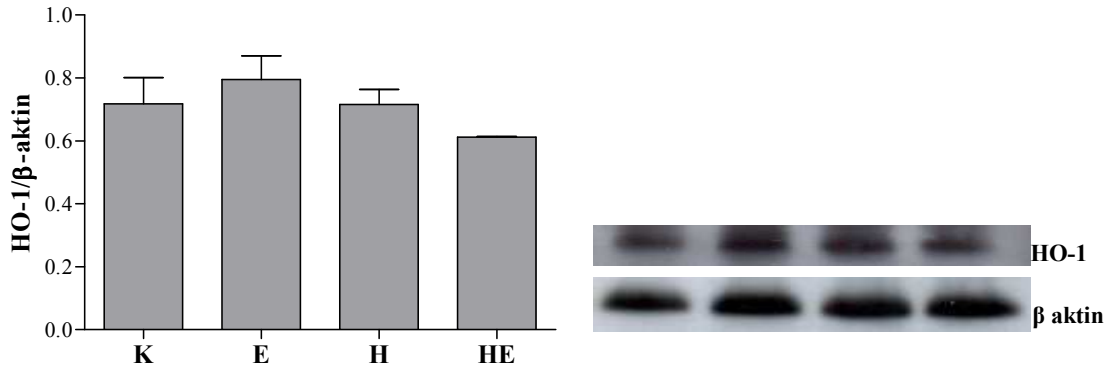
CO donörü CORM'a grupların doz-yanıt eğrileri incelendiğinde, gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı saptandı. Benzer olarak  $E_{max}$  yanıtları her iki hipertansif grupta yüksek olsada anlamlı olmadığı gözlemlendi. H ve HE grupları arasında da fark yoktu. ODQ inkübasyonu sonucu grupların CORM yanıtlarında bir değişiklik yokken,  $K^+$  kanalı TEA inhibitör ile inkübasyon sonrası, tüm grupların CORM yanıtları baskılandı ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 4.7.** Mezenter yatak direnç damarlarının maksimal yüzde gevşeme yanıtları ( $E_{max}$ ).

Protokol	K	E	H	HE
CORM (%)	41,11 ± 6,07	37,96 ± 4,07	58,81 ± 6,10	64,20 ± 5,99
ODQ (%)	56,35 ± 3,65	41,92 ± 5,55	63,12 ± 5,04	62,77 ± 6,15
TEA (%)	18,69 ± 3,74	11,45 ± 2,59	33,52 ± 5,60	38,34 ± 9,11

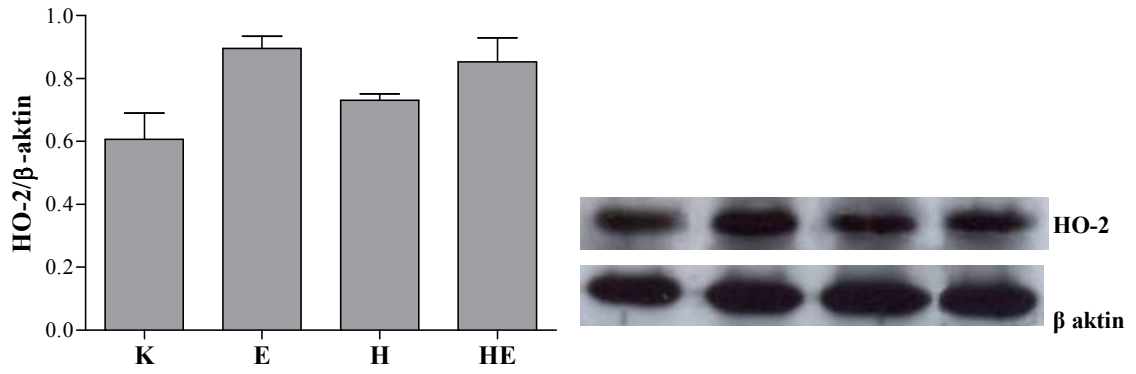
#### 4.6.3. Mezenter Yatak Direnç Damarlarında HO-1 ve HO-2 Ekspresyonu

Mezenter yatak direnç damarlarından elde edilen örneklerde ölçülen HO-1 protein düzeyleri, aynı dokuda ölçülen  $\beta$ -aktin miktarına oranlanmıştır. Direnç damarlarındaki HO-1 ekspresyonları açısından gruplar arasında bir fark saptanmadı (K  $0,72 \pm 0,08$ ; E  $0,80 \pm 0,07$ ; H  $0,72 \pm 0,05$ ; HE  $0,61 \pm 0,001$ ). HO-1 ekspresyonunu gösteren örnek şekil 4.16'da yer almaktadır.



Şekil 4.16. Mezenter yatak direnç damarlarında HO-1 ekspresyonu.

Mezenter yatak direnç damarlarındaki HO-1 ekspresyonları açısından gruplar arasında bir fark saptanmadı (K  $0,66 \pm 0,10$ ; E  $0,90 \pm 0,03$ ; H  $0,73 \pm 0,02$ ; HE  $0,85 \pm 0,07$ ). HO-2 ekspresyonu sonuçları Şekil 4.17’de sunulmuştur.



Şekil 4.17. Mezenter yatak direnç damarlarında HO-2 ekspresyonu

## TARTIŞMA

Kan basıncının kalıcı olarak yükselmesi hangi sosyoekonomik düzeyde olursa olsun önemli bir sağlık sorunu yaratmaktadır. Hipertansiyonun koroner kalp hastalıklarına, kalp yetmezliğine, böbrek hasarına, serebrovasküler hastalıklara zemin hazırlaması çok iyi bilinen süreçlerdir (29). Bundan dolayı tıbbi veritabanları incelendiğinde (Medline gibi), hipertansiyon anahtar kelimesini içeren binlerce çalışma olduğu görülmektedir. Hipertansiyonun mekanizmasını, yan etkilerini, tedavisini araştıran çalışmalarda etik kaygılar nedeniyle insanlarda çok detaylara inilememektedir. Bu zorluğu aşmak için hipertansiyon araştırmalarında çeşitli deneysel hipertansiyon modelleri kullanılmaktadır. Kendiliğinden hipertansif sıçan türlerinin yanında, çeşitli girişimlerle hipertansif hale getirilen (Dahl-tuz hipertansiyon modeli, DOCA-tuz hipertansiyon modeli, Goldblatt hipertansiyon modelleri) sıçanlar uzun yıllardan beri çok sayıda araştırmaya konu olmuşlardır. Bizim araştırmamızda kullandığımız NOS-inhibisyonu hipertansiyon modeli ise son yıllarda sık kullanılan ve diğerlerine göre oldukça yeni bir modeldir (5).

Egzersiz, hipertansiyonu düşürücü etkisinin mekanizmasında tek bir açıklama yer almamaktadır. Total katekolamin düzeyi ve sempatik aktivitede azalma (17, 50, 169-170), PGE<sub>2</sub> düzeyi artışı (14, 171), renin-anjiyotensin sistemindeki düzelmeler (17), Na atılımının artması, insülin direncinin azalması (14), baroreflaks mekanizması duyarlılığının değişmesi (4, 170), damarlardaki yapısal değişimler (14), kalp hızı ve periferik dirençte azalma (55, 172-173), damar endotel yanıtındaki düzelmeler (51) bunlar arasında sayılmaktadır. Egzersizin, NOS-inhibisyonu hipertansiyonuna etkisini incelediğimiz önceki çalışmamızda (18) 4 hafta boyunca L-NAME uygulanan grupta egzersizin kalp hızı, plazma renin aktivitesi, damar duvarındaki yapısal değişikliklere etkisi saptanamazken, total NOS aktivitesinin çizgili kas dokusunda arttığını göstermiştik. Daha sonra kas direnç damarlarının yanıtlarını incelediğimiz çalışmada ise hem gevşetici agoniste (asetil kolin) hem de fiziksel uyarana (akım) gevşeme yanıtlarının egzersizle düzeldiğini gösterdik (20). Aynı zamanda bu etkinin de damarlardaki eNOS ekspresyonu artışı ile ilişkili olabileceğini ile ortaya koyduk.

Son araştırmamızda egzersizin yaptığı düzeltici etki çizgili kas direnç damarlarındaki eNOS protein artışına bağlı NO üretiminde artış ile olduğu izlenimini verse de ortada açıklayamadığımız bir boşluk vardır. Kan basıncında egzersize bağlı olarak düşüş ve damar yanıtlarında düzelmeye sağladığımız egzersiz yapan hipertansif grupta, damar yanıtlarındaki düzelmeyi yalnızca eNOS ekspresyonu artışı ile açıklayamadık. Damar banyosu ortamında L-NAME inkübasyonu ile eNOS inhibisyonu yapmamıza rağmen, direnç damarları yanıtlarında hala bir düzelmeye devam etmekte idi. Bu durumda egzersiz yapan hipertansif hayvanlarda çizgili kas direnç damar yanıtlarındaki düzelmeyi NO üretimi artışı tek başına açıklayamamaktadır. Gevşeme yanıtlarının NOS inhibisyonu ile tamamen baskılanamaması başka bir vazodilatörün katkısı olabileceğini düşündürmektedir.

NO ve CO'nun sGC ve Ca<sup>+2</sup> bağımlı K<sup>+</sup> kanalları aracılığıyla damar gevşeme yanıtı oluşturduğu bilinmektedir (83). Ayrıca birçok çalışmada CO'nun NO için bir yedekleme molekül olduğu ortaya konmuştur (7, 10, 13). Spontan hipertansif ratlarda yapılan bir çalışmada hipertansiyonun geliştiği 20 haftalık hayvanlarda önemli ölçüde azalan NO üretimine karşılık CO miktarının arttığı gösterilmiştir (7). Bu bilgiler gözetilerek planladığımız bu çalışmada amacımız NOS inhibisyonu ile hipertansif hale getirilen sıçanlarda düzenli fiziksel aktivite sonrası direnç damarlarında görülen gevşeme yanıtlarının düzelmesinde CO'nun rolünü ortaya koymaktı.

### **Kan Basıncındaki Değişiklikler**

Hipertansiyonların %95'lik oranını oluşturan esansiyel hipertansiyonu açıklayan önemli hipotezlerden biri de endotel disfonksiyonudur (37). Hem insan hem de hayvanlarda gösterilen bu durum temel olarak asetilkolin gibi uyarılara bağlı olarak endotelden gevşetici maddelerin salgılanmasında yetersizlik olarak belirir (3). NOS-inhibisyonu hipertansiyonu da endotel yetmezlikle ilişkilendirilmiştir (1, 5). Diğer yönden hipertansiyonun da endotel fonksiyon bozukluğu yapabileceği iddia edilmektedir (174). Fakat ister primer isterse hipertansiyona sekonder oluşsun endotel fonksiyon bozukluğu sonucu NO eksikliği karşımıza önemli bir sorun olarak çıkmaktadır.

Çalışmamızda NOS inhibisyonu yapmak için içme suyuna bir L-arginin analogu olan L-NAME 25 mg.kg-1.gün-1 dozunda katıldı. L-NAME için çeşitli verilme yolları olsa da (intraperitoneal, intramuskuler, gavaj) genellikle tercih edilen içme suyuna katılmasıdır (5, 68-69). Deney hayvanlarının içme suyu tüketimleri takibinde önemli bir sapma yoksa benzer düzeyde alım yaptıkları kabul edilmektedir. Bizim çalışmamızda su tüketimleri birbirine oldukça yakındı.

Deney hayvanlarımızın kan basıncı non-invazif bir yöntem olan kuyruktan ölçümle takip edildi. 6 hafta boyunca kan basıncı takip edilen hayvanların L-NAME alanlarında belirgin yükseliş gözlemlendi. Çalışmanın son ölçümüne kadar kan basıncı yükselmesi devam etti. Bu seyir ve ulaşılan değerler, verilen doz göz önüne alındığında bizim önceki çalışmalarımızı da teyit eder durumdaydı (18-20).

Çalışmamızda hipertansiyon oluşturmaktan başka, gruplarımıza uyguladığımız diğer bir girişim de yüzme egzersizidir. Düzenli fiziksel aktivitenin kardiyovasküler sistem sağlığına katkısı çok iyi bilinen bir durumdur ve kardiyovasküler hastalıklardan en sık görülenlerden biri olan hipertansiyonla egzersiz arasındaki ilişki de etraflıca araştırılmıştır (14, 42, 49). Fiziksel aktivitesi fazla olan bireylerde hipertansiyonun görülme sıklığının az olmasının yanında hipertansiyonlu kişilerde aktivitenin artırılması kan basıncı değerlerinde önemli düşüşler yapmaktadır. Bu durum birçok deneysel çalışmada ortaya konduğu gibi, şimdiki verilerimizce de gösterilmiştir. L-NAME verilerek hipertansiyon oluşturulan ve eşzamanlı olarak egzersiz uygulanan HE grubunun kan basınçları kontrol grubuna göre yüksek saptandı, yalnızca NOS inhibitörü alan H grubuna göre ise istatistiksel olarak düşüktü. NOS-inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde egzersizin kan basıncı üzerine etkisini inceleyen şimdiye kadar yapılmış ilk çalışmada De Angelis Lobo d'Avila K ve ark. egzersizle kan basıncında istatistiksel olarak önemli

olmayan düşüş saptanırken (175), bizim yaptığımız her üç çalışma ve çalışmada da egzersiz istatistiksel olarak anlamlı azaldı (18-20). Sıçanların yaptırılan fiziksel aktivite sonucu antrene oldukları vastus lateralis kırmızı kas liflerinden yapılan sitrat sentaz aktiviteleri ile analiz edildi. Her iki egzersiz yapan sıçan grubunun, yapmayan eşleniklerine göre sitrat sentaz aktiviteleri anlamlı daha yüksek idi. Krebs siklusu enzimleri arasında yer alan sitrat sentaz enzimi, aerobik reaksiyonlar sonrası elde edilen enerjinin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Sitrat sentaz aktivitesinin yüzme egzersizi yapan gruplarda yüksek olması sıçanların antrene olduklarının göstergesi idi.

### **Damar Yanıtlarının İncelenmesi**

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 (176). Birçok doku gibi kas dokusunda da damar direnci büyük ölçüde çapı 10 ile 500 µm arasında değişen direnç damarlarının fonksiyonu olarak karşımıza çıkar (177). Doku gereksinimine göre direnç damarları, tonusunu değiştirerek kan akımını ayarlayabilir (metabolik teori). 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.

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. 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 için kullanılan iki teknik vardır. Bunlardan ilki olan telli miyografya çeşitli maddelere karşı damarın verdiği yanıtlar izometrik kuvvet transdüseriyle kaydedilmektedir. Diğeri ise damarın iki kanül arasına takılıp içinden geçen sıvının akım veya basıncının istendiği gibi düzenlenebildiği ve yanıtlarının daha fizyolojik koşullarda alınabileceği basınç miyografi tekniğidir (178-179). Basınç miyografında akım ve basınç ayrı ayrı kontrol edilebildiğinden, damarlarda akım aracılığıyla değişen kayma geriliminin damar tonusuna etkisi de incelenebilmektedir. Damarın silindirik yapısının korunması ve akım-basınç ikilisinin ayrı ayrı kontrol edilebilmesinden dolayı basınç miyografya daha fizyolojik bir teknik olsa da, protokol sürelerinin uzun olması ve nisbeten daha zor manipulasyonu nedeniyle, basınç miyografının yanı sıra telli miyograf da tercih edilebilen bir tekniktir.

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 gastroknekius çizgili kası ve çapları 200-220 µm arasında değişen mezeter yatak direnç arterleri yanıtları ise telli miyografya alındı. Gastroknekius çizgili kas direnç arteri, fiziksel aktiviteye bağlı adaptasyon gösteren damar yatağı olduğu için

çalışmamıza dahil edildi. Egzersiz sırasında inaktif dokuların damar yanıtlarındaki değişiklikler ise mezenter yatak direnç damarları yanıtlarından toplandı.

### **Endojen CO Yanıtlarının İncelenmesi**

Endotel dokusunun hasar görmemesi için azami dikkat gösterilerek organ banyosu veya telli miyografa takılan damarların çapı ve boyuna uygun olarak in-vivo şartlarda 90 mmHg'ya karşılık gelecek istirahat geriminde bekletilip, daha sonra uygulanan vitalizasyon işlemi ve endotel dokularının sağlamlığının onaylanması sonucu ilk olarak endojen oluşan CO yanıtları incelendi. Endojen CO yanıtlarını incelemek için NO yanıtlarını incelemede kullanılan asetil kolin gibi belli bir uyarın yoktur. Damarın çeşitli kasıcı veya gevşetici agonistlere verdiği yanıt sonrası ortama eklenen HO inhibitörü sonrası yine aynı agoniste alınan yanıt ile aradaki fark endojen CO oluşumunu göstermektedir. Biz damarlarımızın önce Phe'ne verilen kümülatif doz yanıtlarını aldıktan sonra, HO enzim inhibitörü olan CRMP ile inkübasyon sonrası tekrar Phe'ne yanıtları kaydettik. İki uygulama arasındaki Phe'ne verilen olası kasılma yanıtı artışı ile CO'nun o damar segmentindeki gevşeme katkısını değerlendirdik.

Torasik aorta'da oluşan endojen CO üretimi incelendiğinde, kontrol grubunda Phe'e verilen kasılma kümülatif doz-yanıtları ve Emax değerleri arasında CRMP eklenmeden ve eklendikten sonra izlenen % 20'lik fark vardı. Egzersiz grubu endojen CO oluşumu açısından hem Phe doz-yanıt eğrileri hem de %55 civarında artan Emax yanıtlarında çok belirgin fark vardı. Egzersize bağlı endojen CO oluşumu artışına bağlı gevşeme yanıtı artışı daha önce de gösterilen bir sonuçtur (21). Meng-Wei Sun ve arkadaşları (21) bu artışı HO-1 ve HO-2 proteinin artışına bağlamışlardır. Bizim çalışmamızda da egzersiz grubunda torasik aorta dokularında yapısal form HO-2'nin azalmasına karşın, indüklenebilir form olan HO-1 artmıştır. Bu durum HO-2'ye göre daha güçlü bir enzim olan HO-1'in artışı sonucu (92) torasik aorta'nın endojen CO üretimi artmasını açıklamaktadır. Bir stres proteini olan HO-1'in egzersizdeki artışı için ileri sürülen olası mekanizmalar arasında kas hasarı, ısı artışı olabileceği ileri sürülmektedir (21)

Hipertansif ve egzersiz yapan hipertansif grupların endojen CO yanıtları incelendiğinde hem doz-yanıt eğrileri hem de Emax değerleri açısından bir fark bulunamamıştır. Çalışmamızda gözlenen ilginç bir durum ise fiziksel aktivite yapan hipertansif HE grubunda, H grubuna göre, endojen CO üretiminin artmamasına rağmen HO-1 ve HO-2 enzim proteinlerinin artmasıdır. HE grubunda HO-1 ve 2 düzeyleri artsa da bunun aktivitesine yansımadağı izlenmiştir. Çeşitli deneysel hipertansiyon modellerinde HO enziminin up-regüle olduğu bilinmesine rağmen (10), NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinde HO-1 ve HO-2 ekspresyonunun değişmediği, HO-1 ve HO-2 mRNA düzeyinin ise arttığı saptanmıştır (12, 180).

Kontrol grubu sıçanların direnç damarları endojen CO yanıtları açısından incelendiğinde ise, CO'nun bu damarların tonusunun düzenlenmesine katkıda bulunmadığı izlenmiştir. Hipertansiyonun veya düzenli fiziksel aktivitenin de kontrol grubuna göre endojen CO yanıtları açısından bir katkı sağlamadığı, Phe kümülatif doz-yanıt eğrileri ile Emax değerleri arasında bir fark olmamasından anlaşılmıştır. Mezenter yatak direnç damarları grupları arasında HO-1 ve HO-2 protein



ekspresyonu açısından bir fark göstermezken, gastroknemius kası direnç arterlerinde HO-1 ve HO-2 protein ekspresyonları hem egzersiz hem de hipertansif grupta kontrol grubuna göre daha düşük idi. HE grubunda ise, H grubuna göre artış saptandı. Mezenter ve gastroknemius damarlarındaki HO enzimlerinin varlığı ve HO-1'in gastroknemius direnç damarlarında düzeyindeki değişiklikler, bu enzimlerin vasküler tonüsün düzenlenmesinden başka fonksiyonlar (anti-inflamatuar, anti-apoptotik, anti-proliferatif etkiler gibi) için burada olduklarını işaret etmektedir (108). Bundan dolayı ekspresyonlarındaki değişiklikler damar gevşeme yanıtlarını değiştirmemiştir.

Çalışmamızda alınan endojen CO yanıtlarındaki olumlu değişimler egzersiz grubunda aortada izlenmiştir. Kan basıncını düzenlemedeki direnç arterleri iletim tipi arterlere kıyasla çok daha önemli konumdadır. Bundan dolayı çalışmamızda özellikle egzersiz sırasında aktif doku olan çizgili kas direnç damarlarında bir farklılık izlenmemesi, CO'nun NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinde kan basıncı düşüşüne katkıda bulunmadığını göstermektedir. Bu model hipertansiyonda CO için, NO'ı yedekleme molekülü olması söz konusu değildir.

### **Ekzojen CO Yanıtlarının İncelenmesi**

CO donörü CORM'un banyolara eklenmesi ile elde edilen kümülatif gevşeme yanıtları her üç damar segmentinde ikinci protokol olarak kaydedildi. CO'nun damarlar üzerinde gevşetici etkisi genel bilgiler kısmında da anlatıldığı gibi sGC enzimine etki ile cGMP'yi artırması ve/veya K<sup>+</sup> kanallarını aktive etmesiyle göstermektedir. Çalışmamızda incelenen damar segmentlerinde hangi yolağın ön planda olduğunu ve olası değişikliklerini izlemek için, CORM doz yanıtları ayrı ayrı olarak sGC inhibitörü ODQ ve seçici olmayan K<sup>+</sup> kanal inhibitörü TEA inkübasyonu sonrası da kaydedildi.

Torasik aorta halkalarının CORM'a verdikleri doz-yanıt eğrileri ve Emax değerleri egzersiz ve hipertansif grupta, kontrol grubundan farklı değildi. Egzersiz yapan hipertansif grubun CORM'a verdikleri gevşeme yanıtları ise hipertansif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksekti. Sıçanlarda hipertansiyon üzerine düzenli egzersizin etkisinin incelendiği tek çalışmada, torasik aorta ekzojen CO yanıtları hipertansif grupta artmazken, hipertansif-egzersiz grubunda artmıştır (22). CO'nun etki mekanizması için yapılan ODQ ve TEA inkübasyonları sonrası, her ikisinin de, torasik aorta halkalarında CORM'a verilen gevşeme yanıtlarını belli ölçüde inhibe ettiği izlendi. CO sıçan kuyruk arterinde de gösterildiği gibi torasik aortada her iki yolağı kullanmaktadır (143). Gruplar arasında torasik aortada CO'nun kullandığı yolaklar açısından her hangi bir fark bulunamadı.

Her iki direnç damarı segmentlerinin ekzojen CO'ya verdikleri gevşeme yanıtları açısından gruplar arasında bir fark izlenmedi. Fakat direnç damarlarında CO'nun gevşeme oluşturduğu yolak bakımından torasik aortadan farklı idi. Grupların CORM gevşeme yanıtları ODQ inkübasyonundan etkilenmezken, TEA inkübasyonu sonucu baskılandı. Bu durum CO'nun, torasik aortada hem sGC hem de K<sup>+</sup> kanalları ile etki ederken, direnç damarlarında yalnızca K<sup>+</sup> kanalları üzerinden etkili olduğunu göstermektedir.

## SONUÇLAR

NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinde düzenli fiziksel aktivite sonucu hem iletim tipi hem de direnç damarlarında endojen CO yanıtları değişmedi. Bu model hipertansiyonda HO/CO sisteminin kompensatuar olarak iş görmediği izlenimini doğurmaktadır. Fakat egzersiz yapan hipertansif sıçanlarda HO-1 ve HO-2 ekspresyonu artmasına rağmen endojen CO yanıtının değişmemesi ve torasik aortada ekzojen CO'ya verilen yanıt artışı üzerinde durulması gereken sonuçlar olarak göze çarpmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Ribeiro MO, Antunes E, de Nucci G, Lovisolo SM, Zatz R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension*. 1992;20(3):298-303.
2. Cooke JP, Dzau VJ. Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med*. 1997;48:489-509.
3. De Artinano AA, Gonzalez VL. Endothelial dysfunction and hypertensive vasoconstriction. *Pharmacol Res*. 1999;40(2):113-24.
4. Silva GJ, Brum PC, Negrao CE, Krieger EM. Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1997;30(3 Pt 2):714-9.
5. Zatz R, Baylis C. Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension*. 1998;32(6):958-64.
6. Stec DE, Drummond HA, Vera T. Role of carbon monoxide in blood pressure regulation. *Hypertension*. 2008;51(3):597-604.
7. Ndisang JF, Tabien HE, Wang R. Carbon monoxide and hypertension. *J Hypertens*. 2004;22(6):1057-74.
8. Zhang F, Kaide JI, Rodriguez-Mulero F, Abraham NG, Nasjletti A. Vasoregulatory function of the heme-heme oxygenase-carbon monoxide system. *Am J Hypertens*. 2001;14(6 Pt 2):62S-7S.
9. Chen YH, Yet SF, Perrella MA. Role of heme oxygenase-1 in the regulation of blood pressure and cardiac function. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2003;228(5):447-53.
10. Wu L, Wang R. Carbon monoxide: endogenous production, physiological functions, and pharmacological applications. *Pharmacol Rev*. 2005;57(4):585-630.
11. Cao J, Inoue K, Li X, Drummond G, Abraham NG. Physiological significance of heme oxygenase in hypertension. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009;41(5):1025-33.
12. Ushiyama M, Morita T, Katayama S. Carbon monoxide regulates blood pressure cooperatively with nitric oxide in hypertensive rats. *Heart Vessels*. 2002;16(5):189-95.

13. Thorup C, Jones CL, Gross SS, Moore LC, Goligorsky MS. Carbon monoxide induces vasodilation and nitric oxide release but suppresses endothelial NOS. *Am J Physiol.* 1999;277(6 Pt 2):F882-9.
14. Dunbar CC. The antihypertensive effects of exercise training. *N Y State J Med.* 1992;92(6):250-5.
15. Fregly MJ. Effect of an exercise regimen on development of hypertension in rats. *J Appl Physiol.* 1984;56(2):381-7.
16. Tipton CM, Matthes RD, Callahan A, Tchong TK, Lais LY. The role of chronic exercise on resting blood pressures of normotensive and hypertensive rats. *Med Sci Sports.* 1977;9(3):168-77.
17. Tipton CM. Exercise, training and hypertension: an update. *Exerc Sport Sci Rev.* 1991;19:447-505.
18. Kuru O, Senturk UK, Demir N, Yesilkaya A, Erguler G, Erkilic M. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. *Eur J Appl Physiol.* 2002;87(2):134-40.
19. Kuru O, Senturk UK, Gulkesen H, Demir N, Gunduz F. Physical training increases renal injury in rats with chronic NOS inhibition. *Ren Fail.* 2005;27(4):459-63.
20. Kuru O, Senturk UK, Kocer G, Ozdem S, Baskurt OK, Cetin A, et al. Effect of exercise training on resistance arteries in rats with chronic NOS inhibition. *J Appl Physiol.* 2009;107(3):896-902.
21. Sun MW, Zhong MF, Gu J, Qian FL, Gu JZ, Chen H. Effects of different levels of exercise volume on endothelium-dependent vasodilation: roles of nitric oxide synthase and heme oxygenase. *Hypertens Res.* 2008;31(4):805-16.
22. Boissiere J, Lemaire MC, Antier D, Courteix D, Bonnet P. Exercise and vasorelaxing effects of CO-releasing molecules in hypertensive rats. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38(4):652-9.
23. Eugene Braunwald, Douglas P. Zipes, Peter Libby, Norman M. Kaplan. *Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine, 6th Edition, Chapter 28.* P.941-72.
24. Textor SC. Pathogenesis of hypertension. In *Primer on Kidney Diseases.* Greenberg A(ed): National Kidney Foundation, Academic Press, 1998; 491-495
25. Kaplan NM. Primary hypertension: Pathogenesis, in *Clinical Hypertension.* Williams & Wilkins, 7th edition, pp. 41-99, 1998.

26. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003;289(19):2560-72.
27. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365(9455):217-23.
28. Guilbert JJ. The world health report 2002 - reducing risks, promoting healthy life. *Educ Health (Abingdon)*. 2003;16(2):230.
29. Kornitzer M, Dramaix M, De Backer G. Epidemiology of risk factors for hypertension: implications for prevention and therapy. *Drugs*. 1999;57(5):695-712.
30. Vasan RS, Beiser A, Seshadri S, Larson MG, Kannel WB, D'Agostino RB, et al. Residual lifetime risk for developing hypertension in middle-aged women and men: The Framingham Heart Study. *JAMA*. 2002;287(8):1003-10.
31. <http://tekharf.org/images/2009/bolum6.pdf>.
32. Altun B, Arici M, Nergizoglu G, Derici U, Karatan O, Turgan C, et al. Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in Turkey (the PatenT study) in 2003. *J Hypertens*. 2005;23(10):1817-23.
33. Campese VM. Clinical aspects and management of essential hypertension . In *Textbook of Nephrology*. Massry SG, Glasscock RJ(eds) 3th edition. Williamsand Wilkins, Baltimore 1995, pp1189
34. Qiu CC, Zhou WY. [Susceptible genes of essential hypertension]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. 2006;28(2):284-8.
35. Kumar KV, Das UN. Are free radicals involved in the pathobiology of human essential hypertension? *Free Radic Res Commun*. 1993;19(1):59-66.
36. Januszewicz W, Chodakowska J. Pathogenesis of essential hypertension--present views. *Pol J Pharmacol*. 1996;48(1):61-5.
37. Kaplan NM. *Clinical Hypertension*. 7th edition. Williams & Wilkins. 1998. p. 281-363.
38. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, et al. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2007;28(12):1462-536.

39. Dickinson HO, Mason JM, Nicolson DJ, Campbell F, Beyer FR, Cook JV, et al. Lifestyle interventions to reduce raised blood pressure: a systematic review of randomized controlled trials. *J Hypertens*. 2006;24(2):215-33.
40. Beilin LJ, Puddey IB, Burke V. Lifestyle and hypertension. *Am J Hypertens*. 1999;12(9 Pt 1):934-45.
41. The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Arch Intern Med*. 1997;157(21):2413-46.
42. Arakawa K. Hypertension and exercise. *Clin Exp Hypertens*. 1993;15(6):1171-9.
43. Prevention of hypertension and associated cardiovascular disease: a 1991 statement. Conclusions from a joint WHO/ISH meeting. *Clin Exp Hypertens A*. 1992;14(1-2):333-41.
44. American College of Sports Medicine. Position Stand. Physical activity, physical fitness, and hypertension. *Med Sci Sports Exerc*. 1993;25(10):i-x.
45. Watson K, Jamerson K. Therapeutic lifestyle changes for hypertension and cardiovascular risk reduction. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2003;5(1 Suppl 1):32-7.
46. Stone NJ. The clinical and economic significance of atherosclerosis. *Am J Med*. 1996;101(4A):4A6S-9S.
47. Pescatello LS, Franklin BA, Fagard R, Farquhar WB, Kelley GA, Ray CA. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. *Med Sci Sports Exerc*. 2004;36(3):533-53.
48. Wallace JP. Exercise in hypertension. A clinical review. *Sports Med*. 2003;33(8):585-98.
49. Jennings GL. Exercise and blood pressure: Walk, run or swim? *J Hypertens*. 1997;15(6):567-9.
50. Jennings G, Nelson L, Korner P, Esler M. The place of exercise in the long-term treatment of hypertension. *Nephron*. 1987;47 Suppl 1:30-3.
51. Grassi G, Seravalle G, Calhoun D, Bolla GB, Mancia G. Physical exercise in essential hypertension. *Chest*. 1992;101(5 Suppl):312S-4S.
52. Fagard RH. Exercise characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training. *Med Sci Sports Exerc*. 2001;33(6 Suppl):S484-92; discussion S93-4.

53. Meredith IT, Jennings GL, Esler MD, Dewar EM, Bruce AM, Fazio VA, et al. Time-course of the antihypertensive and autonomic effects of regular endurance exercise in human subjects. *J Hypertens.* 1990;8(9):859-66.
54. Jennings GL, Deakin G, Korner P, Meredith I, Kingwell B, Nelson L. What is the dose-response relationship between exercise training and blood pressure? *Ann Med.* 1991;23(3):313-8.
55. Nelson L, Jennings GL, Esler MD, Korner PI. Effect of changing levels of physical activity on blood-pressure and haemodynamics in essential hypertension. *Lancet.* 1986;2(8505):473-6.
56. Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J.* 1963;27:282-93.
57. Lerman LO, Chade AR, Sica V, Napoli C. Animal models of hypertension: an overview. *J Lab Clin Med.* 2005;146(3):160-73.
58. Dahl LK. Salt and hypertension. *Am J Clin Nutr.* 1972;25(2):231-44.
59. Fujita K, Matsumura Y, Kita S, Miyazaki Y, Hisaki K, Takaoka M, et al. Role of endothelin-1 and the ETA receptor in the maintenance of deoxycorticosterone acetate-salt-induced hypertension. *Br J Pharmacol.* 1995;114(5):925-30.
60. Sun ZJ, Zhang ZE. Historic perspectives and recent advances in major animal models of hypertension. *Acta Pharmacol Sin.* 2005;26(3):295-301.
61. Volpe M, Sosa RE, Muller FB, Camargo MJ, Glorioso N, Laragh JH, et al. Differing hemodynamic responses to atrial natriuretic factor in two models of hypertension. *Am J Physiol.* 1986;250(5 Pt 2):H871-8.
62. Yu H, Rakugi H, Higaki J, Morishita R, Mikami H, Ogihara T. The role of activated vascular angiotensin II generation in vascular hypertrophy in one-kidney, one clip hypertensive rats. *J Hypertens.* 1993;11(12):1347-55.
63. Kone BC, Baylis C. Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. *Am J Physiol.* 1997;272(5 Pt 2):F561-78.
64. Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis.* 1995;38(2):87-104.
65. Sander M, Hansen J, Victor RG. The sympathetic nervous system is involved in the maintenance but not initiation of the hypertension induced by N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester. *Hypertension.* 1997;30(1 Pt 1):64-70.

66. Hropot M, Grotsch H, Klaus E, Langer KH, Linz W, Wiemer G, et al. Ramipril prevents the detrimental sequels of chronic NO synthase inhibition in rats: hypertension, cardiac hypertrophy and renal insufficiency. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1994;350(6):646-52.
67. Zhao H, Shimokawa H, Uragami-Harasawa L, Igarashi H, Takeshita A. Long-term vascular effects of Nomega-nitro-L-arginine methyl ester are not solely mediated by inhibition of endothelial nitric oxide synthesis in the rat mesenteric artery. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1999;33(4):554-66.
68. Pollock DM. Chronic studies on the interaction between nitric oxide and endothelin in cardiovascular and renal function. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1999;26(3):258-61.
69. Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T, Palmer RM, Moncada S. Nitric oxide synthase inhibitors cause sustained, but reversible, hypertension and hindquarters vasoconstriction in Brattleboro rats. *Eur J Pharmacol.* 1992;213(3):449-51.
70. Sakuma I SH, Togashi H, Yoshioka M, Saito H, Nakamura T, Fujioka Y, Kitabatake A, Levi R. A chronic model of hypertension with 52 increased sympathetic drive in the rat by inhibition of nitric oxide synthase, in *Biology of Nitric Oxide-3 Physiological and clinical aspects.* Portland Press. 1994. pp.245-247
71. Yuasa S, Li X, Hitomi H, Hashimoto M, Fujioka H, Kiyomoto H, et al. Sodium sensitivity and sympathetic nervous system in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2000;27(1-2):18-24.
72. Vapaatalo H, Mervaala E, Nurminen ML. Role of endothelium and nitric oxide in experimental hypertension. *Physiol Res.* 2000;49(1):1-10.
73. Navarro J, Sanchez A, Saiz J, Ruilope LM, Garcia-Estan J, Romero JC, et al. Hormonal, renal, and metabolic alterations during hypertension induced by chronic inhibition of NO in rats. *Am J Physiol.* 1994;267(6 Pt 2):R1516-21.
74. Pinto YM, Paul M, Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovasc Res.* 1998;39(1):77-88.
75. Schluter KD, Schreckenber R, da Costa Rebelo RM. Interaction between exercise and hypertension in spontaneously hypertensive rats: a meta-analysis of experimental studies. *Hypertens Res.* 2010;33(11):1155-61.
76. Tipton CM, Matthes RD, Marcus KD, Rowlett KA, Leininger JR. Influences of exercise intensity, age, and medication on resting systolic blood pressure of SHR populations. *J Appl Physiol.* 1983;55(4):1305-10.



77. Gunduz F, Kocer G, Ulker S, Meiselman HJ, Baskurt OK, Senturk UK. Exercise training enhances flow-mediated dilation in spontaneously hypertensive rats. *Physiol Res*. 2011.
78. Shepherd RE, Kuehne ML, Kenno KA, Durstine JL, Balon TW, Rapp JP. Attenuation of blood pressure increases in Dahl salt-sensitive rats by exercise. *J Appl Physiol*. 1982;52(6):1608-13.
79. Elhaimour F, Courderot-Masuyer C, Nicod L, Bobillier-Chaumont S, Robin S, Richert L, et al. Effect of exercise training on liver antioxidant status of deoxycorticosterone acetate salt induced hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2003;81(5):469-75.
80. Husain K. Exercise conditioning attenuates the hypertensive effects of nitric oxide synthase inhibitor in rat. *Mol Cell Biochem*. 2002;231(1-2):129-37.
81. Souza HC, Penteado DM, Martin-Pinge MC, Barbosa Neto O, Teixeira Vde P, Blanco JH, et al. Nitric oxide synthesis blockade increases hypertrophy and cardiac fibrosis in rats submitted to aerobic training. *Arq Bras Cardiol*. 2007;89(2):88-93, 9-104.
82. Ryter SW, Otterbein LE. Carbon monoxide in biology and medicine. *Bioessays*. 2004;26(3):270-80.
83. Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Role of carbon monoxide in cardiovascular function. *J Cell Mol Med*. 2006;10(3):672-86.
84. Sjostrand T. Endogenous formation of carbon monoxide in man. *Nature*. 1949;164(4170):580.
85. Haldane J. The Relation of the Action of Carbonic Oxide to Oxygen Tension. *J Physiol*. 1895;18(3):201-17. PMID: 1514632.
86. Sjostrand T. The formation of carbon monoxide by the decomposition of haemoglobin in vivo. *Acta Physiol Scand*. 1952;26(4):338-44.
87. Karuzina, II, Zgoda VG, Kuznetsova GP, Samenkova NF, Archakov AI. Heme and apoprotein modification of cytochrome P450 2B4 during its oxidative inactivation in monooxygenase reconstituted system. *Free Radic Biol Med*. 1999;26(5-6):620-32.
88. Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. Microsomal heme oxygenase. Characterization of the enzyme. *J Biol Chem*. 1969;244(23):6388-94.
89. Morse D, Choi AM. Heme oxygenase-1: from bench to bedside. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(6):660-70.

90. Yachie A, Niida Y, Wada T, Igarashi N, Kaneda H, Toma T, et al. Oxidative stress causes enhanced endothelial cell injury in human heme oxygenase-1 deficiency. *J Clin Invest.* 1999;103(1):129-35.
91. Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1968;61(2):748-55.
92. Maines MD, Trakshel GM, Kutty RK. Characterization of two constitutive forms of rat liver microsomal heme oxygenase. Only one molecular species of the enzyme is inducible. *J Biol Chem.* 1986;261(1):411-9.
93. McCoubrey WK, Jr., Huang TJ, Maines MD. Isolation and characterization of a cDNA from the rat brain that encodes hemoprotein heme oxygenase-3. *Eur J Biochem.* 1997;247(2):725-32.
94. Hiwasa T, Sakiyama S. Increase in the synthesis of a Mr 32,000 protein in BALB/c 3T3 cells after treatment with tumor promoters, chemical carcinogens, metal salts, and heat shock. *Cancer Res.* 1986;46(5):2474-81.
95. Keyse SM, Tyrrell RM. Both near ultraviolet radiation and the oxidizing agent hydrogen peroxide induce a 32-kDa stress protein in normal human skin fibroblasts. *J Biol Chem.* 1987;262(30):14821-5.
96. Caltabiano MM, Koestler TP, Poste G, Greig RG. Induction of 32- and 34-kDa stress proteins by sodium arsenite, heavy metals, and thiol-reactive agents. *J Biol Chem.* 1986;261(28):13381-6.
97. Shibahara S, Muller RM, Taguchi H. Transcriptional control of rat heme oxygenase by heat shock. *J Biol Chem.* 1987;262(27):12889-92.
98. Taketani S, Kohno H, Yoshinaga T, Tokunaga R. The human 32-kDa stress protein induced by exposure to arsenite and cadmium ions is heme oxygenase. *FEBS Lett.* 1989;245(1-2):173-6.
99. Keyse SM, Tyrrell RM. Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(1):99-103.
100. Mitani K, Fujita H, Sassa S, Kappas A. Activation of heme oxygenase and heat shock protein 70 genes by stress in human hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;166(3):1429-34.
101. Maines MD. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1997;37:517-54.

102. Ryter SW, Tyrrell RM. The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties. *Free Radic Biol Med.* 2000;28(2):289-309.
103. Siow RC, Sato H, Mann GE. Heme oxygenase-carbon monoxide signalling pathway in atherosclerosis: anti-atherogenic actions of bilirubin and carbon monoxide? *Cardiovasc Res.* 1999;41(2):385-94.
104. Otterbein LE, Choi AM. Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000;279(6):L1029-37.
105. Yoshida T, Migita CT. Mechanism of heme degradation by heme oxygenase. *J Inorg Biochem.* 2000;82(1-4):33-41.
106. Kikuchi G, Yoshida T, Noguchi M. Heme oxygenase and heme degradation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;338(1):558-67.
107. Trakshel GM, Kutty RK, Maines MD. Purification and Characterization of the Major Constitutive Form of Testicular Heme Oxygenase - the Noninducible Isoform. *Journal of Biological Chemistry.* 1986;261(24):1131-7.
108. Ryter SW, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from metabolism to molecular therapy. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009;41(3):251-60.
109. Maines MD, Trakshel GM. Differential regulation of heme oxygenase isozymes by Sn- and Zn-protoporphyrins: possible relevance to suppression of hyperbilirubinemia. *Biochim Biophys Acta.* 1992;1131(2):166-74.
110. Shibahara S, Muller R, Taguchi H, Yoshida T. Cloning and expression of cDNA for rat heme oxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985;82(23):7865-9.
111. Rotenberg MO, Maines MD. Isolation, characterization, and expression in *Escherichia coli* of a cDNA encoding rat heme oxygenase-2. *J Biol Chem.* 1990;265(13):7501-6.
112. Maines MD, Panahian N. The heme oxygenase system and cellular defense mechanisms. Do HO-1 and HO-2 have different functions? *Adv Exp Med Biol.* 2001;502:249-72.
113. McCoubrey WK, Jr., Huang TJ, Maines MD. Heme oxygenase-2 is a hemoprotein and binds heme through heme regulatory motifs that are not involved in heme catalysis. *J Biol Chem.* 1997;272(19):12568-74.
114. Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev.* 2006;86(2):583-650.

115. Ryter SW, Otterbein LE, Morse D, Choi AM. Heme oxygenase/carbon monoxide signaling pathways: regulation and functional significance. *Mol Cell Biochem.* 2002;234-235(1-2):249-63.
116. Idriss NK, Blann AD, Lip GY. Hemoxygenase-1 in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52(12):971-8.
117. Von Burg R. Carbon monoxide. *J Appl Toxicol.* 1999;19(5):379-86.
118. Zakhary R, Gaine SP, Dinerman JL, Ruat M, Flavahan NA, Snyder SH. Heme oxygenase 2: endothelial and neuronal localization and role in endothelium-dependent relaxation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(2):795-8.
119. Caudill TK, Resta TC, Kanagy NL, Walker BR. Role of endothelial carbon monoxide in attenuated vasoreactivity following chronic hypoxia. *Am J Physiol.* 1998;275(4 Pt 2):R1025-30.
120. Koehler RC, Traystman RJ. Cerebrovascular effects of carbon monoxide. *Antioxid Redox Signal.* 2002;4(2):279-90.
121. Wang R, Wu L, Wang Z. The direct effect of carbon monoxide on KCa channels in vascular smooth muscle cells. *Pflugers Arch.* 1997;434(3):285-91.
122. Kaide JI, Zhang F, Wei Y, Jiang H, Yu C, Wang WH, et al. Carbon monoxide of vascular origin attenuates the sensitivity of renal arterial vessels to vasoconstrictors. *J Clin Invest.* 2001;107(9):1163-71.
123. Otterbein LE, Bach FH, Alam J, Soares M, Tao Lu H, Wysk M, et al. Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. *Nat Med.* 2000;6(4):422-8.
124. Otterbein LE, Zuckerbraun BS, Haga M, Liu F, Song R, Usheva A, et al. Carbon monoxide suppresses arteriosclerotic lesions associated with chronic graft rejection and with balloon injury. *Nat Med.* 2003;9(2):183-90.
125. Brouard S, Otterbein LE, Anrather J, Tobiasch E, Bach FH, Choi AM, et al. Carbon monoxide generated by heme oxygenase 1 suppresses endothelial cell apoptosis. *J Exp Med.* 2000;192(7):1015-26.
126. Otterbein LE, Otterbein SL, Ifedigbo E, Liu F, Morse DE, Fearn C, et al. MKK3 mitogen-activated protein kinase pathway mediates carbon monoxide-induced protection against oxidant-induced lung injury. *Am J Pathol.* 2003;163(6):2555-63.

127. Nakahira K, Kim HP, Geng XH, Nakao A, Wang X, Murase N, et al. Carbon monoxide differentially inhibits TLR signaling pathways by regulating ROS-induced trafficking of TLRs to lipid rafts. *J Exp Med*. 2006;203(10):2377-89.
128. Taille C, El-Benna J, Lanone S, Boczkowski J, Motterlini R. Mitochondrial respiratory chain and NAD(P)H oxidase are targets for the antiproliferative effect of carbon monoxide in human airway smooth muscle. *J Biol Chem*. 2005;280(27):25350-60.
129. Wang XM, Kim HP, Nakahira K, Ryter SW, Choi AM. The heme oxygenase-1/carbon monoxide pathway suppresses TLR4 signaling by regulating the interaction of TLR4 with caveolin-1. *J Immunol*. 2009;182(6):3809-18.
130. Pae HO, Oh GS, Choi BM, Chae SC, Kim YM, Chung KR, et al. Carbon monoxide produced by heme oxygenase-1 suppresses T cell proliferation via inhibition of IL-2 production. *J Immunol*. 2004;172(8):4744-51.
131. Petrache I, Otterbein LE, Alam J, Wiegand GW, Choi AM. Heme oxygenase-1 inhibits TNF-alpha-induced apoptosis in cultured fibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2000;278(2):L312-9.
132. Zhang X, Shan P, Alam J, Davis RJ, Flavell RA, Lee PJ. Carbon monoxide modulates Fas/Fas ligand, caspases, and Bcl-2 family proteins via the p38alpha mitogen-activated protein kinase pathway during ischemia-reperfusion lung injury. *J Biol Chem*. 2003;278(24):22061-70.
133. Brouard S, Berberat PO, Tobiasch E, Seldon MP, Bach FH, Soares MP. Heme oxygenase-1-derived carbon monoxide requires the activation of transcription factor NF-kappa B to protect endothelial cells from tumor necrosis factor-alpha-mediated apoptosis. *J Biol Chem*. 2002;277(20):17950-61.
134. Morita T, Kourembanas S. Endothelial cell expression of vasoconstrictors and growth factors is regulated by smooth muscle cell-derived carbon monoxide. *J Clin Invest*. 1995;96(6):2676-82.
135. Morita T, Mitsialis SA, Koike H, Liu Y, Kourembanas S. Carbon monoxide controls the proliferation of hypoxic vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*. 1997;272(52):32804-9.
136. Morita T, Perrella MA, Lee ME, Kourembanas S. Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(5):1475-9.
137. Song R, Mahidhara RS, Liu F, Ning W, Otterbein LE, Choi AM. Carbon monoxide inhibits human airway smooth muscle cell proliferation via mitogen-activated protein kinase pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002;27(5):603-10.

138. Alkadhi KA, Al-Hijailan RS, Malik K, Hogan YH. Retrograde carbon monoxide is required for induction of long-term potentiation in rat superior cervical ganglion. *J Neurosci*. 2001;21(10):3515-20.
139. Hawkins RD, Zhuo M, Arancio O. Nitric oxide and carbon monoxide as possible retrograde messengers in hippocampal long-term potentiation. *J Neurobiol*. 1994;25(6):652-65.
140. Ikegaya Y, Saito H, Matsuki N. Involvement of carbon monoxide in long-term potentiation in the dentate gyrus of anesthetized rats. *Jpn J Pharmacol*. 1994;64(3):225-7.
141. Shinomura T, Nakao S, Mori K. Reduction of depolarization-induced glutamate release by heme oxygenase inhibitor: possible role of carbon monoxide in synaptic transmission. *Neurosci Lett*. 1994;166(2):131-4.
142. Sammut IA, Foresti R, Clark JE, Exon DJ, Vesely MJ, Sarathchandra P, et al. Carbon monoxide is a major contributor to the regulation of vascular tone in aortas expressing high levels of haeme oxygenase-1. *Br J Pharmacol*. 1998;125(7):1437-44.
143. Wang R, Wang Z, Wu L. Carbon monoxide-induced vasorelaxation and the underlying mechanisms. *Br J Pharmacol*. 1997;121(5):927-34. PMID: 1564776.
144. Christodoulides N, Durante W, Kroll MH, Schafer AI. Vascular smooth muscle cell heme oxygenases generate guanylyl cyclase-stimulatory carbon monoxide. *Circulation*. 1995;91(9):2306-9.
145. Hussain AS, Marks GS, Brien JF, Nakatsu K. The soluble guanylyl cyclase inhibitor 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3- $\alpha$ ]quinoxalin-1-one (ODQ) inhibits relaxation of rabbit aortic rings induced by carbon monoxide, nitric oxide, and glyceryl trinitrate. *Can J Physiol Pharmacol*. 1997;75(8):1034-7.
146. Abraham NG, Kappas A. Pharmacological and clinical aspects of heme oxygenase. *Pharmacol Rev*. 2008;60(1):79-127.
147. Kozma F, Johnson RA, Zhang F, Yu C, Tong X, Nasjletti A. Contribution of endogenous carbon monoxide to regulation of diameter in resistance vessels. *Am J Physiol*. 1999;276(4 Pt 2):R1087-94.
148. Leffler CW, Nasjletti A, Yu C, Johnson RA, Fedinec AL, Walker N. Carbon monoxide and cerebral microvascular tone in newborn pigs. *Am J Physiol*. 1999;276(5 Pt 2):H1641-6.
149. Hartsfield CL. Cross talk between carbon monoxide and nitric oxide. *Antioxid Redox Signal*. 2002;4(2):301-7.

150. Kim YM, Pae HO, Park JE, Lee YC, Woo JM, Kim NH, et al. Heme oxygenase in the regulation of vascular biology: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 2011;14(1):137-67.
151. Ryter SW, Morse D, Choi AM. Carbon monoxide: to boldly go where NO has gone before. *Sci STKE*. 2004;2004(230):RE6.
152. Stone JR, Marletta MA. Soluble guanylate cyclase from bovine lung: activation with nitric oxide and carbon monoxide and spectral characterization of the ferrous and ferric states. *Biochemistry*. 1994;33(18):5636-40.
153. Pae HO, Son Y, Kim NH, Jeong HJ, Chang KC, Chung HT. Role of heme oxygenase in preserving vascular bioactive NO. *Nitric Oxide*. 2010;23(4):251-7.
154. Johnson RA, Lavesa M, Askari B, Abraham NG, Nasjletti A. A heme oxygenase product, presumably carbon monoxide, mediates a vasodepressor function in rats. *Hypertension*. 1995;25(2):166-9.
155. Johnson RA, Colombari E, Colombari DS, Lavesa M, Talman WT, Nasjletti A. Role of endogenous carbon monoxide in central regulation of arterial pressure. *Hypertension*. 1997;30(4):962-7.
156. Ndisang JF, Zhao W, Wang R. Selective regulation of blood pressure by heme oxygenase-1 in hypertension. *Hypertension*. 2002;40(3):315-21.
157. Levere RD, Martasek P, Escalante B, Schwartzman ML, Abraham NG. Effect of heme arginate administration on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J Clin Invest*. 1990;86(1):213-9.
158. Delp MD. Differential effects of training on the control of skeletal muscle perfusion. *Med Sci Sports Exerc*. 1998;30(3):361-74.
159. Essig DA, Borger DR, Jackson DA. Induction of heme oxygenase-1 (HSP32) mRNA in skeletal muscle following contractions. *Am J Physiol*. 1997;272(1 Pt 1):C59-67.
160. Thompson D, Basu-Modak S, Gordon M, Poore S, Markovitch D, Tyrrell RM. Exercise-induced expression of heme oxygenase-1 in human lymphocytes. *Free Radic Res*. 2005;39(1):63-9.
161. Niess AM, Passek F, Lorenz I, Schneider EM, Dickhuth HH, Northoff H, et al. Expression of the antioxidant stress protein heme oxygenase-1 (HO-1) in human leukocytes. *Free Radic Biol Med*. 1999;26(1-2):184-92.

162. Hildebrandt AL, Pilegaard H, Neufer PD. Differential transcriptional activation of select metabolic genes in response to variations in exercise intensity and duration. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285(5):E1021-7.
163. Fehrenbach E, Niess AM, Passek F, Sorichter S, Schwirtz A, Berg A, et al. Influence of different types of exercise on the expression of haem oxygenase-1 in leukocytes. *J Sports Sci.* 2003;21(5):383-9.
164. Hellsten Y, Nielsen JJ, Lykkesfeldt J, Bruhn M, Silveira L, Pilegaard H, et al. Antioxidant supplementation enhances the exercise-induced increase in mitochondrial uncoupling protein 3 and endothelial nitric oxide synthase mRNA content in human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med.* 2007;43(3):353-61.
165. Steensberg A, Keller C, Hillig T, Frosig C, Wojtaszewski JF, Pedersen BK, et al. Nitric oxide production is a proximal signaling event controlling exercise-induced mRNA expression in human skeletal muscle. *FASEB J.* 2007;21(11):2683-94.
166. Marini M, Lapalombella R, Margonato V, Ronchi R, Samaja M, Scapin C, et al. Mild exercise training, cardioprotection and stress genes profile. *Eur J Appl Physiol.* 2007;99(5):503-10.
167. Peake J, Suzuki K. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exerc Immunol Rev.* 2004;10:129-41.
168. 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. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001;280(2):R441-7.
169. Chen Y, Chandler MP, DiCarlo SE. Daily exercise and gender influence postexercise cardiac autonomic responses in hypertensive rats. *Am J Physiol.* 1997;272(3 Pt 2):H1412-8.
170. Chandler MP, DiCarlo SE. Sinoaortic denervation prevents postexercise reductions in arterial pressure and cardiac sympathetic tone. *Am J Physiol.* 1997;273(6 Pt 2):H2738-45.
171. Kiyonaga A, Arakawa K, Tanaka H, Shindo M. Blood pressure and hormonal responses to aerobic exercise. *Hypertension.* 1985;7(1):125-31.
172. Veras-Silva AS, Mattos KC, Gava NS, Brum PC, Negrao CE, Krieger EM. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol.* 1997;273(6 Pt 2):H2627-31.



173. Urata H, Tanabe Y, Kiyonaga A, Ikeda M, Tanaka H, Shindo M, et al. Antihypertensive and Volume-Depleting Effects of Mild Exercise on Essential-Hypertension. *Hypertension*. 1987;9(3):245-52.
174. Marin J, Rodriguez-Martinez MA. Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. *Pharmacol Ther*. 1997;75(2):111-34.
175. De Angelis Lobo d'Avila K, Gadonski G, Fang J, Dall'Ago P, Albuquerque VL, Peixoto LR, et al. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. *Hypertension*. 1999;34(4 Pt 2):768-72.
176. Thomas GD, Segal SS. Neural control of muscle blood flow during exercise. *J Appl Physiol*. 2004;97(2):731-8.
177. 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 Med*. 1996;21(2):119-46.
178. Falloon BJ, Stephens N, Tulip JR, Heagerty AM. Comparison of small artery sensitivity and morphology in pressurized and wire-mounted preparations. *Am J Physiol*. 1995;268(2 Pt 2):H670-8.
179. Schiffrin EL, Hayoz D. How to assess vascular remodelling in small and medium-sized muscular arteries in humans. *J Hypertens*. 1997;15(6):571-84.
180. Rodriguez F, Lamon BD, Gong W, Kemp R, Nasjletti A. Nitric oxide synthesis inhibition promotes renal production of carbon monoxide. *Hypertension*. 2004;43(2):347-51.

## ÖZGEÇMİŞ

10.05.1983 tarihinde Antalya’da dünyaya gelen Seher ÜLKER İlk öğrenimini Sakarya İlkokulu’nda (1989-1994), orta öğrenimini Kamile Çömlekçioğlu Ortaokulu’nda (1994-1997), lise öğrenimini ise Antalya Karatay Süper Lisesi’nde (1997-2001) tamamladı. Aynı yıl Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde yüksek öğrenime başladı ve 2006 yılında lisans diploması almaya hak kazandı. 2008-2009 Eğitim Öğretim Yılı Bahar Dönemi’nde Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı ve halen Fizyoloji Anabilim Dalında öğrenimine devam etmektedir.