

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

**NİTRİK OKSİT SENTAZ İNHİBİSYONUNA BAĞLI
HİPERTANSİYON MODELİNDE
EGZERSİZİN ÇİZGİLİ KAS
REZİSTANS ARTER YANITLARINA ETKİSİ**

Oktay KURU

Doktora Tezi

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ümit Kemal ŞENTÜRK**

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2005.03.0122.006)

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2006

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kurul Kararı

Sağlık Bilimleri Enstitüsünün 22.06.2000 tarih ve 02/09 sayılı enstitü kurul kararı gereğince “Adayın, doktora tez savunma sınavından önce tez konusunda SCI’e kayıtlı dergilerde en az bir yayın yapması” ilkesi gereğince yapılan yayınların listesi aşağıdadır (Orijinalleri ekte sunulmuştur).

1. **Kuru O.**, Senturk U.K., Gulkesen H., Demir N., Gunduz F. Physical training increases renal injury in rats with chronic NOS inhibition. *Ren Fail* 27(4):459-63, 2005.

2. **Kuru O.**, Senturk U.K., Demir N., Yesilkaya A., Erguler G., Erkilic M. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. *Eur J Appl Physiol* 87(2):134-40, 2002.

ÖZET

Hipertansiyonda artmış arteriyel kan basıncı koroner kalp hastalığı, kalp yetmezliği ve renal hastalıklar gibi önemli hasarlara yol açar. Esansiyel hipertansiyonun etiyolojisine yönelik önemli hipotezlerinden biri haline gelen endotelial disfonksiyon, hem insanlarda hem de hayvanlarda gösterilmiştir. Düzenli fiziksel aktivitenin hipertansif insanlardaki ve bazı hipertansiyon modelleriyle kan basıncı arttırılan sıçanlardaki kan basıncını düşürücü etkileri bilinmektedir. Güçlü bir damar gevşetici olan nitrik oksit (NO) üretiminin bloke edildiği, NO sentaz (NOS) enzim inhibitörü verilen hipertansiyon modelinde de aerobik egzersizin kan basıncını düşürdüğü ortaya konmuştur.

Bu çalışmada kan basıncının düzenlenmesinde önemli yeri olan direnç arterlerinin rolü ve egzersizin etkileri göz önüne alınarak, normotansif ve hipertansif sıçanlarda direnç arterlerinin yanıtlarında egzersize bağlı olası değişiklikler araştırıldı. Bu amaçla kontrol, egzersiz, hipertansif ve hipertansif egzersiz olarak 4 deney grubu oluşturuldu. Hipertansiyon, seçici olmayan NOS enzim inhibitörünün [N^o-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) 25 mg.kg⁻¹.gün⁻¹] 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 hayvanlarda kan basıncı periyodik olarak non-invaziv yöntemle kuyruktan ölçülerek takip edildi. Çalışmanın sonunda kas dokusundan elde edilen direnç arterleri telli miyograf ve basınç miyografi organ banyosu düzeneklerinde alınarak damar yanıtları incelendi. Bunun yanında izole edilen kas dokularında ve kas damarlarında NOS izoformlarının ekspresyonu da Western blot analiziyle saptandı.

Deney sonundaki kan basıncı değerleri her iki hipertansif grupta kontrole göre yüksek bulunurken, hipertansif egzersiz grubu hipertansif gruba göre önemli ölçüde kan basıncı düşüşü sergiledi. Endotelli protokollerde hipertansif gruptaki damarların asetilkolinle uyarılan gevşeme yanıtları değişik ajanlar varlığında (L-arginin, L-NAME) diğer gruplara göre düşüktü. Noradrenaline verilen kasılma cevapları ve sodyum nitroprussid ile uyarılan gevşeme yanıtları ise gruplar arasında hem endotelli hem de endotelsiz damarlarda farksızdı. Ayrıca solubl guanilat siklaz inhibitörü varlığında ve tüm vazodilatör ajanların inhibe edildiği endotelli protokollerde de gruplar arasında asetilkolin aracılı gevşeme yanıtları farksız bulundu. Akım aracılı gevşeme yanıtları hipertansif egzersiz grubunda egzersizle düzelerken, L-NAME varlığı gevşeme yanıtlarında belirgin azalma yarattı. Direnç damarlarında, gevşeme yanıtlarına paralel bir bulgu olarak eNOS ekspresyonu da egzersiz yapan gruplarda artmış olarak bulundu. Kas ve damarlardaki nNOS ve kas dokusundaki iNOS izoformlarının ekspresyonu da gruplar arasında farksızdı.

Sonuç olarak, 6 haftalık düzenli fiziksel aktivitenin NOS inhibisyonuyla hipertansif hale getirilen sıçanlarda kan basıncını düşürdüğü teyit edilmiştir. Endotel kaynaklı NOS izoformunun ekspresyonundaki artış da göz önünde bulundurularak, direnç arterlerinin asetilkolin ve akımla uyarılan gevşeme yanıtlarına bakıldığında NO aracılı gevşeme yolunun egzersiz yapan hipertansif grupta önem kazandığı söylenebilir.

Anahtar kelimeler: hipertansiyon, L-NAME, egzersiz, NOS, miyograf

ABSTRACT

The increase in blood pressure during hypertension leads to important damage as coronary heart disease, heart failure and renal diseases. Endothelial dysfunction, considered to be an important hypothesis for induction of essential hypertension, was clearly demonstrated in humans and experimental animals with hypertension. Regular physical training has blood pressure lowering effects in hypertensive subjects and rats with hypertension in some experimental hypertension models. It was also revealed that aerobic exercise training also leads to a decrease in blood pressure in hypertension induced by inhibition of nitric oxide (NO) production, which is a potent vasodilator. The effect of exercise and probable alterations in response of resistance arteries of hypertensive rats was investigated in present study with a foresight that resistance arteries have important role in regulation of blood pressure.

The rats were divided into four groups as follows: sedentary, exercise, training and non-training hypertensive. Hypertension was induced by oral administration of a non-selective NO synthase enzyme inhibitor [N^ω-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), 25 mg.kg⁻¹.day⁻¹] in daily drinking water for a period of 6 consecutive weeks. Training protocol was performed as swimming for 1 hour daily and 5 days in a week, concomitantly with hypertension in exercising hypertensive group. Blood pressure was monitored periodically by a non-invasive tail-cuff method. The responses of resistance arteries, obtained from exercising striated muscle, were evaluated using wire myography and organ bath equipment, allowing cannulation. The expression of three isoforms of NO synthase enzyme in skeletal muscle tissue and its arteries was determined by Western blot analysis.

Blood pressure values in both hypertensive groups were higher than those of sedentary group while exercise training induced a significant decrease in blood pressure of exercising hypertensive animals. Resistance arteries with intact endothelium exhibited a decreased relaxation response to acetylcholine in presence of either L-arginine or L-NAME in hypertensive group. Noradrenaline induced contraction responses and sodium nitroprussid related relaxation patterns were similar between the groups in both protocols with intact and denuded endothelium. Acetylcholine induced relaxation responses were also not different between the groups in experiments with intact endothelium, where production of all vasodilator mediators was blocked and separately when soluble guanylate cyclase was inhibited. Exercise training led to an improvement of flow mediated vasodilation in exercising hypertensive group and L-NAME incubation apparently ceased the relaxation responses induced by flow. eNOS expression was found to be higher in both exercising groups in accordance with the findings for relaxation responses. nNOS contents of muscle tissues and vessels were not different between the groups and iNOS expression in muscle samples was also unaltered in experimental groups.

In conclusion, the blood pressure lowering effect of regular physical training during hypertension, induced by chronic NOS inhibition, was confirmed in the present study. However, by considering the significant increase in endothelial NOS expression by exercise training, it is possible to indicate for an increased role of NO dependent relaxation pathway in exercising hypertensive rats.

Key words: hypertension, L-NAME, exercise, NOS, myograph

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında, tecrubeleri ve bilgi birikimleriyle bana yol gösteren Dr. Sadi ÖZDEM'e, doktora eğitimim boyunca bana emeği geçen anabilim dalımızın diğer öğretim üyelerine, desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Filiz GÜNDÜZ'e, yardımlarından dolayı Ar.Gör. Arzu Çetin'e ve Akın Büyükakar'a ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Akın YEŐİLKAYA'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hipertansiyon	3
2.1.1. Hipertansiyonun Tanımı ve Patogenezi	3
2.1.2. Hipertansiyonun Tedavisi	4
2.1.3. Hipertansiyon Üzerine Deneysel Yaklaşımlar	4
2.1.4. NOS Blokajıyla Oluşan Hipertansiyon Modeli	5
2.2. Egzersiz ve Hipertansiyon	6
2.2.1. Egzersizin Antihipertansif Etkisi	7
2.2.2. Egzersiz ve Hipertansif Sıçanlar	8
2.3. Nitrik Oksit	10
2.3.1. Nitrik Oksitin Keşfi	10
2.3.2. NO Molekülünün Kimyasal Yapısı ve Özellikleri	11
2.3.3. Substrat Olarak L-arginin	11
2.3.4. L-arginin Amino Asidinden NO Sentezi	11
2.3.5. Nitrik Oksit Sentaz Enzimi	12
2.3.6. Nitrik Oksitin Etki Mekanizması	14
2.3.7. Nitrik Oksitin Metabolizması	14
2.3.8. Nitrik Oksitin Fonksiyonları	15
2.3.8.1. Kan Dolaşımını Düzenlemedeki Rolü	15
2.3.8.2. NO ve Trombosit Aktivitesi	15
2.3.8.3. NO ve İmmun Sistem	16
2.3.8.4. NO ve Sinir Sistemi	16

2.3.9. NOS İnhibitörleri	16
2.4. Egzersizde Mikrodolaşımın Düzenlenmesi	17
2.4.1. Merkezi Kontrol Mekanizmaları	17
2.4.2. Lokal Kontrol Mekanizmaları	18
2.4.2.1. Metabolik Kontrol	18
2.4.2.2. Endotel Aracılı Vasküler Kontrol	18
2.4.2.3. Miyojenik Vasküler Kontrol	19
2.4.2.4. Kas Pompası	19
2.4.2.5. İletilen ve Akım Aracılı Gevşeme	19
2.4.3. Egzersiz Hiperemisinde Rolü Olan Güçlü Vazodilatörler	20
2.4.4. NO ve Egzersiz Hiperemisi	24
2.5. Amaç ve Hipotez	26
GEREÇ VE YÖNTEMLER	27
3.1. Egzersiz Protokolü	27
3.2. Hipertansiyonun Oluşturulması	27
3.3. Kan Basıncı Ölçümü	28
3.4. Deneyin Sonlandırılması	28
3.4.1. Telli Miyograf Çalışması	29
3.4.2. Basınç miyografi çalışması	31
3.5. Western Blot Analizi	32
3.5.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması	32
3.5.2. Elektroforez ve Blotlama İşlemleri	32
3.5.3. Görüntüleme ve Değerlendirme	32
3.6. Verilerin Değerlendirilmesi	33
BULGULAR	34
4.1. Vücut Ağırlığı	34
4.2. Kan Basıncı	34
4.3. Telli Miyografda Değerlendirilen Damar Cevapları	35
4.3.1. KCI Cevapları	35
4.3.2. Noradrenaline Verilen Kasılma Yanıtları	35
4.3.3. Sodyum Nitroprussid ile Elde Edilen Gevşeme Yanıtları	36
4.3.4. Asetilkoline Verilen Gevşeme Cevapları	36

4.3.5. L-arginin Varlığında Saptanan Gevşeme Yanıtları	37
4.3.6. L-NAME İnhibisyonuyla Gözlenen Damar Cevapları	37
4.3.7. ODQ İnhibisyonuyla Saptanan Gevşeme Cevapları	38
4.3.8. L-NAME, İndometasin ve K ⁺ Kanalları İnhibisyonuyla elde Edilen Damar Cevapları	38
4.3.9. Endotelsiz Damarların Yanıtları	39
4.4. Basınç Miyografi Çalışması ve Akım Aracılı Gevşeme Cevapları	40
4.5. Western Blot Sonuçları	41
4.5.1. Direnç Damarlarındaki Bulgular	41
4.5.2. Çizgili Kas Dokusundaki Bulgular	41
TARTIŞMA	42
SONUÇLAR	48
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	60
EKLER	61

Ek-1. Kuru O., Senturk U.K., Gulkesen H., Demir N., Gunduz F. Physical training increases renal injury in rats with chronic NOS inhibition. *Ren Fail* 27(4):459-63, 2005.

Ek-2. Kuru O., Senturk U.K., Demir N., Yesilkaya A., Erguler G., Erkilic M. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. *Eur J Appl Physiol* 87(2):134-40, 2002.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

(11,12-EET) :	11,12-eikozatrienoik asit
•NO ₂ :	Nitrojen dioksit
•OH :	Hidroksil radikali
ACE :	Anjiotensin dönüştürücü enzim
ACh :	Asetilkolin
ATP :	Adenozin trifosfat
Ca :	Kalsiyum
cDNA :	Komplementer deoksiribonukleik asit
cGMP :	Guanozin 3',5'-monofosfat
CO ₂ :	Karbondioksit
COX :	Siklooksijenaz
DKB :	Diyastolik kan basıncı
DOCA :	Deoksikortikosteron asetat
EDRF :	Endotel kaynaklı gevşetici faktörün
E _{max} :	maksimal kasılma/gevşeme değeri
FAD :	Flavin adenin dinukleotid
Fe :	Demir
FMN :	Flavin mononukleotid
GAPDH :	gliseraldehit-3-fosfat-dehidrogenaz
GTP :	Guanozin trifosfat
H ₄ B :	(6R)-5,6,7,8-tetrahidrobiopterin
Hb :	Hemoglobin

K	:	Potasyum
KCl	:	Potasyum klorür
K _{ir}	:	Ters yönlü potasyum kanalı
L-NA	:	N-nitro-L-arginin
L-NAA	:	N-amino-L-arginin)
L-NAME	:	N-nitro-L-arginin-metil ester
L-NIO	:	N-iminoetil-L-ornitin
L-NMA	:	N-metil-L-arginin
L-NMMA	:	N-monometil-L-arginindir
LPS	:	Lipopolisakkarid
Mg	:	Magnezyum
N ₂ O ₃	:	Nitroz anhidrit
N ₂ O ₄	:	Dinitrojen tetraoksit
NA	:	Noradrenalin
NaCl	:	Sodyum klorür
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NANC	:	Nonadrenerjik nonkolinerjik
NO	:	Nitrik oksit
NO ⁻	:	Nitroksil iyonu
NO ⁺	:	Nitrozonium
NO ₂ ⁻	:	Nitrit
NO ₃ ⁻	:	Nitrat
NOS	:	Nitrik oksit sentaz
O ₂	:	Oksijen

ODQ	:	1H-[1,2,4]Oxadiazolo[4,3-a] quinox-alin-1-one
OONO ⁻	:	peroksinitrit anyonu
P _{2y}	:	purinerjik P _{2y} reseptörü
PG	:	prostaglandin
PG-I ₂	:	prostasiklin
sGC	:	çözünebilir sitozolik guanilat siklaz
SKB	:	sistolik kan basıncı
SNAP	:	S-nitroso-N-acethyl-penicillamine
SNP	:	sodyum nitroprussid
VO _{2 MAX}	:	maksimal oksijen kapasitesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. L-argininden NO sentezi	12
4.1. Deney gruplarındaki sistolik kan basıncı değerleri	34
4.2. Rezistans arterlerindeki noradrenalin (10^{-9} – 3×10^{-6} M) doz-cevap eğrileri	35
4.3. Direnç damarlarında sodyum nitroprusid (10^{-9} – 10^{-5} M) ile elde edilen gevşeme cevapları	36
4.4. Rezistans arterlerinde ACh (10^{-9} – 10^{-6} M) uyarısıyla elde edilen gevşeme cevapları	36
4.5. L-arginin (10^{-3} M) inkubasyonu sonrasında saptanan ACh-gevşeme yanıtları	37
4.6. L-NAME (10^{-4} M) inkubasyonu sonrasında elde edilen ACh-gevşeme cevapları	37
4.7. ODQ (10^{-5} M) inhibisyonu sonrasında damar örneklerinde saptanan ACh-gevşeme cevapları	38
4.8. L-NAME (10^{-4} M), indometasin (10^{-5} M), tetraetil amonyum (10^{-3} M) ve 4-aminopiridin (10^{-3} M) inhibisyonu sonrasında direnç damarlarında elde edilen ACh-gevşeme cevapları	38
4.9. Direnç damarlarında akım aracılığıyla uyarılan gevşeme yanıtları	40
4.10. Damarlardaki eNOS protein ekspresyonu sonuçları ve Western blot görüntüsü	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo		Sayfa
4.1.	Değişik protokollerde direnç damarlarının sergilediği maksimal cevap değerleri	35
4.2.	Deney gruplarındaki NOS proteini ekspresyonu sonuçları	41

GİRİŞ

Hipertansif insanlarda düzenli fiziksel aktivitenin kan basıncını düşürücü etkisi 1950'li yıllardan beri bilinmektedir (1). Egzersizin bu olumlu etkisi çeşitli hayvanlarda uygulanan deneysel hipertansiyon modellerinde de gösterilmiştir (2,3,4,5). Aksine bazı görüşler olsa da kendiliğinden hipertansif sıçanlarda, Dahl-tuz hipertansiyonunda, deoksikortikosteron asetat (DOCA)-tuz hipertansiyonunda, Goldblatt hipertansiyonunda düşük-orta şiddetteki egzersizin artmış kan basıncında düşüş yaptığı veya kan basıncının artışı geciktirdiği birçok çalışma ile kanıtlanmıştır (2,6,7,8).

İleri sürülen birçok hipotez olsa da egzersizin kan basıncını düşürücü etkisini periferik damar direncinde azalma ile yaptığı kabul edilir (4,9,10). Sempatik sinir sisteminin aktivitesinde değişme, dolaşımda adrenerjik hormonların azalması, baroreseptör yanıtlardaki değişiklikler, insulin direncinin azalması, renin-anjiyotensin sistemindeki değişiklikler periferik direncin azalmasında etkisi olduğu çeşitli araştırmalarla gösterilen mekanizmalardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise total periferik direncin azalmasında egzersizde artan kan akımı aracılığı ile yükselen kayma gerilimi (*shear stress*) sonucu nitrik oksit (NO) üretiminin artışı da sorumlu tutulmaktadır (11,12,13,14,15). Düzenli egzersiz ile artan kayma gerilimi nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin genetik ekspresyonunu arttırmaktadır (16).

Endotel, salgıladığı değişik özellikteki parakrin maddelerle vasküler işlevlerin kontrolünde büyük öneme sahiptir. Endotel kaynaklı NO bilinen en güçlü endojen vazodilatördür ve dolaşım dengesinin önemli bir düzenleyicisidir. Üretimindeki ve etkisindeki bozukluklar vasküler hastalıkların başlangıcında ve gelişiminde önemli rol oynar. NO'nun azalması veya eksikliği hipertansiyon oluşumuna katkıda bulunan etkenlerden biridir (17). NOS inhibitörlerinin uygulanması sistemik vasküler dirençte artışa sebep olduğu için kan basıncını yükseltir. Bu veriler damar direncinin dengelenmesinde NO'nun büyük homeostatik rolü olduğunu gösterir (4,18).

1992 yılında tanımlanmış olan NOS-blokajı ile oluşturulan hipertansiyon modeli, NO'nun kardiyovasküler fizyolojideki rolünün araştırılmasına önemli katkı yapmıştır (17,18). Egzersiz uygulamasının NOS-blokajı hipertansiyon modelindeki kan basıncı düşürücü etkisi, daha önceki bir çalışmadan farklı olarak (19), ilk defa 2002 yılında yaptığımız çalışma ile gösterildi (5). Bu çalışmamızda 4 hafta boyunca N^ω-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlara eşzamanlı olarak koşu bandında düzenli olarak egzersiz yaptırıldı. Deneyin sonunda kan basınçları normale inmediyse de hipertansif gruba göre istatistiksel olarak önemli düşüş gösterdi. Bu olumlu etkinin mekanizmasını ortaya koymaya yönelik incelemede egzersiz yapan sıçanlarda kas NOS aktivitesinde istatistiksel

olarak önemli artış saptandı. Fakat bu çalışmamızda kasta artmış bulunan NOS aktivitesinin periferik direnci düşürmeye yetip yetmeyeceği, kan basıncını düzenleyen direnç damarlarının yanıtlarında değişiklik yapıp yapmadığı araştırılmamıştı.

Bu çalışmanın amacı bir önceki çalışmada yanıtını veremediğimiz sorulara ışık tutmaktır. Bu amaçla düzenli egzersiz yapan, NOS-blokajı hipertansiyonlu sıçanlardaki hipertansiyonun düşüşüne etkisi olduğu düşünüldüğümüz direnç damarlarındaki yanıtların ne yönde değiştiğini ortaya koymayı hedefledik. Ayrıca egzersize bağlı NOS artışının hangi NOS tipinden kaynaklandığını da direnç damarı ve kasta düzeylerini saptayarak göstermeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

2.1. Hipertansiyon

2.1.1. Hipertansiyonun Tanımı ve Patogenezi

Sistemik arteriyel kan basıncının kalıcı olarak yüksek değerlerde seyretmesi hipertansiyon olarak tanımlanır. Kabul edilen normal kan basıncı değerleri sistolik kan basıncı (SKB) için 120 mmHg ve diyastolik kan basıncı (DKB) için 80 mmHg'dır. Kısaca 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 (20).

Basit bir hastalık olmayan hipertansiyon pek çok patolojik sürecin başlamasına yol açar. Toplumlara göre ve toplumdaki yaş gruplarına göre görülme sıklığı farklıdır. Yaşla birlikte hipertansiyon riskinin artmasına rağmen ileri yaş grupları arasında göze çarpan aşırı farklar yoktur. Buna göre 40 yaşın üzerindeki için hipertansiyon sıklığı %15'in üzerindeyken 65 yaşından sonra %20 değerini aşar. Erkekler için hipertansiyon riski kadınlara göre fazlayken ileri yaştaki kadınlarda, aynı yaştaki erkeklere göre daha önemli bir sağlık sorunu olarak görülür. Ayrıca siyah ırktaki insanlarda, incelenen diğer toplumlara göre hipertansiyon görülme sıklığının yaklaşık iki kat olduğu belirlenmiştir (21).

Pek çok risk faktörü hipertansiyon gelişimine katkıda bulunabilir. Yaş ve cinsiyet etkenleri dışında genetik, psikososyal ve metabolik faktörler de kalıcı kan basıncı yükselmesine neden olabilir. Genetik ön koşullar aynı ailedeki hipertansiyon gelişim riskini genelde artırır ve kalıtsal geçiş söz konusudur. Şişmanlık, aşırı tuz alımı, insulin direnci ve uzun süreli alkol tüketimi gibi şartlar metabolik etkenler arasında sayılabilir. Bu etkenler normal damar tonusunun düzenlenmesini bozarak periferik direnç artışına yol açabilirler. Hipertansiyon gelişimine katkıda bulunan diğer durumlar ise sedanter hayat tarzı, devamlı çevresel ve sosyal stres ve sempatik sinir sistemi aktivitesinin artması olarak sayılabilir. Sözü geçen faktörlerin eşzamanlı ve karmaşık etkisi hipertansiyon gelişimine neden olur (21).

Klinik ve etiyolojik olarak kalıcı kan basıncı yükselmesiyle karakterize hipertansiyon primer ve sekonder hipertansiyon olarak iki bölüme ayrılır. Primer hipertansiyon kesin nedeni belirlenemeyen hipertansiyon türüdür ve hipertansif hastaların yaklaşık %95'inde görülür. Kan basıncı artışı sistemik damar direncindeki kalıcı artışa bağlıdır ve bunun için öne sürülen pek çok neden vardır. Kalp debisi artışı (20), periferik direnç artışı (20,22), sıvı ve kan hacmi artışı (23), stres ve aşırı sempatik aktivite gibi (20,21) etkileri barındıran mekanizmaların yanında renin-anjiyotensin sisteminin katkısı da

üzerinde durulan bir diğer konudur (20,22). Bunun yanında endotel dokusunun işlevindeki bozulma da esansiyel hipertansiyonun nedenleri arasında sayılabilir. Endotelden salgılanan vazoaaktif maddeler lokal kan akımı kontrolünde önemlidir (20,21). Bunlardan biri olan NO'nun azalması veya eksikliği de hipertansiyon oluşumuna katkıda bulunan etkenlerden biridir (24).

Sekonder hipertansiyon ise başka bir hastalığa ikincil olarak gelişen kalıcı kan basıncı artışı olup tüm hipertansiyon olgularının %5'ini oluşturur. Başlıca nedenleri arasında renal, endokrin ve damar anomalileri sayılabilir. Gençlerde veya hipertansiyon hikayesi olmayan yetişkinlerde hızlı kan basıncı artışı gözlemlendiğinde ön plana geçen ihtimal sekonder hipertansiyon varlığıdır. Ayrıca anihipertansif tedaviye çok zayıf cevap veren hipertansiyonlu bireylerde de bu ihtimal düşünülür (25).

2.1.2. Hipertansiyonun Tedavisi

Hipertansiyonun ilaçla tedavisinde etki mekanizmaları farklı olan pek çok farmakolojik ajan kullanılmaktadır. Etki şekillerine göre sınıflandırılan antihipertansif ilaçlar genelde benzer etkili birden fazla ajan içeren gruplara ayrılır. *Diüretikler* yaygın olarak kullanılan ilk grubu oluşturur. Periferik ve merkezi etkili inhibitörler olarak ayrılan *adrenerjik inhibitörler* de başka bir grupta yer alır. Merkezi etkili ajanlar α_2 *agonistler*, α_1 *blokerler*, β *blokerler* ve *kombine* (α ve β) *blokerler* olarak sınıflandırılır. Diğer bir ilaç grubunu ise *vadodilatörler* ve *Ca kanal blokerleri* oluşturur. *Anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE; angiotensine converting enzyme) inhibitörleri* ve *anjiotensin II reseptör blokerleri* de renin-anjiotensin sisteminin değişik aşamalarında etkili olan ilaçlardır (26).

Hipertansiyon tedavisinde ilaç tedavisi yaygın olarak kullanılmakla birlikte hastanın yaşam tarzı ve beslenmesi ile ilgili çeşitli uygulamalar da geniş kabul görmektedir. Tuz alımının kısıtlanması (<6 g NaCl/gün), potasyum alımının artırılması (günde 100 mmol), alkol tüketiminin azaltılması, stresten ve ağır fiziksel aktivitelerden kaçınma, vücut ağırlığı yüksek olan bireylerin kilo vermeleri önerilmektedir (21). Kan basıncının düşmesine katkı sağlayan önemli bir diğer faktör ise egzersizdir. Hipertansiyon tedavisinde, antihipertansif ilaçlarla birlikte uygulanan egzersiz, kan basıncı üzerine olumlu etkilerinin yanısıra kilo kaybına da yardımcı olur.

2.1.3. Hipertansiyon Üzerine Deneysel Yaklaşımlar

Hipertansiyon üzerine çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bunun nedeni etkilediği populasyon yüzdesi ve uzun vadede yol açtığı hasarlarıdır. Yapılan araştırmalarda hipertansiyonun mekanizmasını ve tedavisini aydınlatmak için çok farklı yaklaşımlar uygulanmaktadır.

Çeşitli etik sorunlar ve daha detaylı girişimsel araştırma gereksinimi yüzünden hipertansiyon araştırmalarında hayvanlar da sıklıkla kullanılmaktadır. Hipertansiyon araştırmalarında en sık kullanılan tür

sıçanlardır. Kendiliğinden hipertansif olan sıçanlar (spontan hipertansif ratlar, SHR) insandaki esansiyel hipertansiyonun modeli olarak kabul edilmektedir. Ayrıca çeşitli girişimlerle oluşturulan hipertansiyon modelleri de vardır.

Sıçanlarda oluşturulan başlıca hipertansiyon modelleri kısaca şunlardır: İnsanlardaki esansiyel hipertansiyon oluşumunu andıran ve genetik predispozisyon nedeniyle sıçanlarda kendiliğinden gelişen, yüksek kan basıncı değerleriyle karakterize bir hipertansiyon türü spontan hipertansiyondur (27). Yaşı arttıkça sistolik kan basınçları 190 mmHg'nin üzerine çıkan bu sıçanlar, birkaç nesil boyunca normalin üzerinde kan basıncına sahip sıçanların kendi aralarında çiftleştirilmeleriyle elde edilirler (24). Diğer bir model DOCA-tuz hipertansiyon modelidir. Bir böbreği alınmış olan sıçanlara periyodik olarak cilt altı DOCA enjeksiyonu uygulanan bu modelde içme suyu olarak %1'lik sodyum klorür verilir ve kan basıncı artışı sağlanır (28). Böbrek arterlerinin gümüş klipslerle daraltıldığı başka bir model ise deneysel Goldblatt hipertansiyonudur. İki böbreğin de sağlam olduğu "iki böbrek bir klips" modelinin yanı sıra (29) "bir böbrek bir klips" modeli de sıçanlarda kan basıncını arttırmak için kullanılır (30). Dahl-tuz hipertansiyon modeli de deneysel olarak geliştirilen hipertansiyon modellerinden biridir. Tuza dirençli ve tuza duyarlı olarak, farklı genetik özelliklere sahip iki sıçan soyu Dahl ve arkadaşları tarafından ortaya konmuştur. Normalin üzerinde tuz alımı tuza duyarlı olan sıçanlarda hipertansiyon oluşumunu uyarır (31).

2.1.4. NOS Blokajıyla Oluşan Hipertansiyon Modeli

NO'nun dolaşımı düzenlemedeki rolünün geniş olarak araştırılması ve muhtemel esansiyel hipertansiyon mekanizmaları arasında yer alması nedeniyle NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelini, konunun temeli olarak daha ayrıntılı incelemeyi gerektirir.

Kronik NOS inhibisyonu yeni bir hipertansiyon modeli olarak 1992 yılından beri kullanılmaktadır (18,32). İki ayrı araştırma grubu tarafından tanımlanan ve NO üretiminin engellenmesine dayanan bu modelde kan basıncının uzun vadede düzenlenmesinde NO'nun katkısı olduğu bulgusu karşımıza çıkmaktadır. NOS inhibitörlerinin farklı dozlarının sıçanlarda hipertansiyona yol açmasının yanında yüksek dozlarda daha ağır hipertansiyon ve böbrek hasarı gözlenir (18,33). Farklı araştırmacılar tarafından elde edilen paralel bulgular kronik NOS inhibisyonunun yeni bir arteriyel hipertansiyon modeli olarak yerleşmesini sağlamıştır.

Bir L-arginin analogu olan L-NAME sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılan ilk NOS inhibitörüdür (18,32,34). Suda çözünebilmesi ve içme suyuyla kolayca hayvanlara verilebilmesi, takip eden yıllarda bu modelin yaygın kullanımına yol açmıştır. Sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılan diğer bir uygulama yolu da L-NAME'nin intraperitoneal enjeksiyonudur (35).

İlk defa Baylis ve çalışma arkadaşları sekiz hafta boyunca L-NAME'yi günde 5 mg/kg dozda kullanarak, bunun sıçanlarda stabil hipertansiyon ve glomerüloskleroz gelişimine neden olduğunu göstermiştir (18,32). Yine aynı yıl başka bir çalışmayla Ribeiro ve arkadaşları da günde 70 mg/kg dozunda verilen L-NAME'nin daha ağır bir hipertansiyona yol açtığını ve glomerüler iskemi, glomerüloskleroz gibi patolojilerin de buna eşlik ettiğini gözlemiştir (32).

DeneySEL L-NAME hipertansiyon modelinin kullanıldığı sıçan çalışmalarında bu inhibitörün değişik dozlardaki ve uygulama sürelerindeki etkisi de incelenmiştir. Farklı kan basıncı artışlarının saptanmasının yanında gözlenen net etki kan basınçlarında belirgin bir artış, uygulama süresine ve doza bağımlı bir etki olarak bildirilmiştir (17,34,36). Sıçanlarda aynı dozda uygulanan L-NAME farklı soylarda değişik düzeyde kan basıncı artışlarına yol açmaktadır (32). Bu farklı hipertansif cevaplara rağmen kronik olarak uygulanan yüksek dozdaki L-NAME'nin daha büyük damar ve böbrek patolojilerinin gelişmesine neden olduğu bilinen bir durumdur (18,33).

2.2. Egzersiz ve Hipertansiyon

Egzersiz hipertansiyonda gözlenen yüksek kan basıncı üzerindeki etkileri, fiziksel aktiviteyle kan basıncı arasındaki bağlantının fark edilmesinden sonra araştırılmıştır. Devamlı fiziksel aktivitenin antihipertansif etkisini kanıtlayan çalışmalar ve bu konudaki benzer gözlemler egzersizin hipertansiyon tedavisinde kullanılma düşüncesini ortaya çıkarmıştır. 1980'li yıllarda bu konuda yapılmış pek çok çalışma göze çarpar. Yine de kesin metodoloji içeren ilk resmi tavsiye 1992 yılında JNC'nin (*Joint National Committee of the USA*) raporunda yayınlanmıştır (9). Egzersizin olumlu etkilerine değinen ve benzer tavsiyeler içeren daha önceki yıllara ait raporlar da Dünya Sağlık Örgütü ve Amerika Birleşik Devletlerindeki başka sağlık kuruluşları tarafından yayınlanmıştır (1,9). Egzersizin sadece kan basıncını düşürücü etkisi değil, kalp ve dolaşım komplikasyonları riskini önleyici etkisini de ortaya koyan birçok çalışma göze çarpar; ayrıca epidemiyolojik çalışmalar sedanter hayat tarzının esansiyel hipertansiyon patogeneğinde yer alabileceğine işaret etmektedir.

1958 yılında Miall ve Oldham ilk defa fiziksel aktiviteyle istirahattaki kan basıncı arasındaki bağlantıyı ortaya koymuştur (37). Bu araştırmacıların gözlemlerine göre ağır iş yükü gerektiren mesleklerde çalışan işçilerin istirahattaki kan basıncı değerleri, daha az fiziksel aktivite gerektiren işlerde çalışan insanlarınkinden daha düşüktür. Yine aynı yıla ait başka bir yayında da fiziksel aktivite içeren işlerde çalışan erkeklerde daha az hipertansiyon gözlemlendiği ve daha az aktif olan işlerdeki göre bu insanlarda hipertansiyon gelişiminin 10-15 yıl daha geç gözlemlendiği belirtilmiştir (1). Bu veriler daha geniş kitleleri kapsayan çalışmalarla da doğrulanmıştır (9). Ayrıca kolej öğrencilerinden sportif faaliyetlere katılanlarda da hayatlarının daha geç dönemlerinde hipertansiyon sıklığının azaldığı saptanmıştır (1).

Elde edilen verilerin ışığında programlı ve kontrollü yapılan egzersizin normotansif ve hipertansif kişilerdeki kan basıncına etkisi pek çok çalışmada araştırılmıştır. Egzersizin bu etkisinin saptanamadığı çalışmalar ise izometrik veya ağır egzersiz kullanılan protokoller olup (1) bu tür egzersiz tavsiye edilmemiştir (9). Ayrıca bazı çalışmalarda uygun olmayan kontrol grubu seçilmesi sonucu istenen olumlu etkilerin saptanamadığı da gözlenmiştir.

Egzersizin neden olduğu kan basıncı değişiklikleri değerlendirilirken, egzersizin akut etkilerinden kaçınmak için, son egzersiz uygulamasından bir veya iki gün sonra ölçülen değerlerin kullanılması daha uygundur ve ölçümü yapan kişinin deneklerin özelliğini bilmemesi verilerin güvenilirliği açısından daha doğrudur (38).

Egzersizin hipertansif insanlardaki etkilerini inceleyen çalışmalarda fiziksel aktivitenin ruhsal rahatlık verici plasebo etkisini devre dışı bırakmak bir problem olarak görülmektedir. İnsan çalışmaları için sedanter gruplara uygulanabilecek ideal bir "plasebo egzersiz" tanımlanamamıştır. Okuma, sedanter aktiviteler veya yük getirmeyen bisiklet egzersizi gibi uygulamaların yanında (38), sedanter gruplardaki kişilere hafif gerinme hareketleri yaptırılarak, kendilerine "hafif egzersiz" grubunda oldukları söylenmiştir (1).

2.2.1. Egzersizin Antihipertansif Etkisi

Egzersizin kan basıncını düşürücü etkisini gösteren çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte bu etkinin, uygulanan egzersizin türü, şiddeti, sıklığı gibi değişken faktörlerle yakından bağlantısı olduğu söylenebilir. Fiziksel aktivite sırasında aynı anda mümkün olduğu kadar fazla kas ve kas grubunu çalıştıran yürüme, koşma, bisiklet, yüzme gibi dinamik egzersiz türlerinin hipertansif hastalarda anlamlı kan basıncı düşüşlerine neden olduğu bilinmektedir (1,9,38). Öte yandan, daha çok izole bir kas grubunu çalıştıran izometrik egzersizler genellikle kan basıncı üzerine olumlu etkilerde bulunmamaktadır.

Egzersizin antihipertansif etkinliğinde önemli olan bir başka faktör ise egzersizin şiddetidir. Yapılan çalışmalarda, uygulanan fiziksel aktivite şiddetinin, kanda laktat birikim eşliğinin altında olması gerektiği vurgulanmakta ve genellikle maksimal aerobik kapasitenin ($VO_2 \text{ MAX}$) %40'ı ile %70'i arasında değişen ağırlıktaki aerobik egzersiz uygulamaları önerilmektedir (9,10,39). 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 süresi ve sıklığıdır. Uygulanan egzersizin şiddetine göre değişebilmekle birlikte çeşitli araştırmalarda bir defada uygulanan egzersiz süresi 30 ile 60 dakika olarak belirlenmiştir (40). Ancak egzersizin kan basıncı üzerine olumlu etkileri, yapıldığı sürece devam etmektedir. 1 ay ile 1 yıl arasında değişen sürelerde uygulanan uygun

egzersiz protokollerinin kan basıncını düşürücü etkisi gösterilmekle birlikte, sağlanan olumlu etkinin devam etmesi için fiziksel aktivitenin de devamı gerekmektedir (39). Öte yandan uygulanan egzersiz protokolünün sıklığı haftada 3 gün olarak önerilmekte, bu sıklıkta yapılan egzersizin kan basıncını düşürmede daha yüksek sıklıktaki uygulamalardan daha etkili ve olumlu etkilerin devam etmesi için yeterli olduğu gösterilmiştir (1,9,10,40).

Egzersizin kan basıncı üzerindeki etkileri ilaç tedavisi alan hipertansif hastalarda da incelenmiştir. Hipertansiyon nedeniyle ilaç tedavisi alan hastalarda düzenli egzersiz uygulaması sonucunda, tedavi için gerek duyulan ilaç dozunda azalma olduğu ve bazı hipertansif hastalarda ilaç tedavisinin kesilmesinden sonra bile kan basınçlarının düşük olarak korunduğu gösterilmiştir (1,10). Literatürde bu araştırmalara zıt görüşler de yer almakla birlikte, ilaç tedavisine egzersizin eklenmesiyle kullanılan ilaç dozlarının azalması kabul edilen bir durumdur.

Sonuç olarak, düzenli aerobik egzersiz, hafif ve orta şiddetli esansiyel hipertansiyonlu hastalara alternatif bir tedavi uygulaması olarak önerilmektedir. Egzersizin kan basıncını düşürücü etkisi ise egzersizin türü, sıklığı ve şiddeti dışında, baştaki kan basıncı değerlerine de bağlıdır (10,38) ve bu etki egzersiz programı kesildikten kısa süre ortadan kalkar (10). Bunun yanı sıra fiziksel kondisyon bireyler arasında farklılıklar gösterebildiğinden, egzersiz uygulamaları farklı bireylerde farklı yanıtlara neden olabilmekte ve bu nedenle egzersiz uygulamaları için bireysel yaklaşım önerilmektedir (41,42).

2.2.2. Egzersiz ve Hipertansif Sıçanlar

Egzersizin antihipertansif etkisi insanların yanı sıra, deneysel olarak hipertansif hale getirilen veya kendiliğinden hipertansif olan sıçanlarda da araştırılmıştır. Çeşitli hipertansiyon modellerinde, aerobik egzersiz uygulamaları sonucu elde edilen yanıtlar farklılık gösterebildiğinden, her hipertansiyon modeli için ayrı ayrı incelenmesi gereklidir.

Spontan Hipertansif Sıçanlar. Doğumdan sonraki ilk haftalarda normal kan basıncı değerlerine sahip olan spontan hipertansif sıçanlar ilk iki ay sonunda hızlı kan basıncı artışları sergilerler ve yaklaşık 13 haftalık olduklarında ise yerleşik hipertansiyonlu olarak kabul edilirler (6).

Spontan hipertansiyon modelinde uygulanan düşük şiddetteki (VO_2 MAX'ın %55'i ağırlığında) koşu egzersizinin kan basıncını düşürdüğü, fakat yüksek şiddetteki egzersizin (VO_2 MAX'ın %85'i ağırlığında) aynı etkiye sahip olmadığı gösterilmiştir (42). Yaşları 3-12 hafta arasında değişen spontan hipertansif sıçanlarda uygulanan kısa ve uzun süreli çeşitli egzersiz protokollerinin anlamlı kan basıncı düşüşlerine neden olduğu, kan basıncı değerlerini normale döndürmese de hipertansiyon gelişimini geciktirdiği gösterilmiştir (2,3,6). Bu verilere göre, spontan hipertansif sıçanlarda

egzersiz uygulamasının kan basıncı artışlarını önlediği ve hipertansiyon gelişimini geciktirici etkisi olduğu söylenebilir.

Dahl-Tuz Hipertansiyon Modeli. Tuza duyarlı Dahl sıçanlarında fazla tuz alımıyla geliştirilen hipertansiyon modelinde egzersizin kan basıncı üzerine olumlu etkisi saptanmıştır. Süreleri 8 hafta ile 2 yıl arasında değişen koşu programlarının uygulandığı çeşitli çalışmalarda egzersiz periyodu sonrasında kan basıncı değerlerinde normal sınırlara varabilen anlamlı düşüşler olduğu gösterilmiştir (2). Yüksek tuz diyetiyle eşzamanlı uygulanan aerobik koşu egzersizi kan basıncında anlamlı düşüşe yol açmış ve fazla tuz alımına rağmen 12 hafta boyunca bu düşüş korunmuştur (43).

DOCA-Tuz Hipertansiyon Modeli. Bu model kullanılarak hipertansif hale getirilen sıçanlarda egzersizin kan basıncı üzerindeki etkisini inceleyen az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Farklı araştırmaların sonucunda, değişik süreler boyunca (10-17 hafta) uygulanan değişik egzersiz türlerinin (yüzme, koşma, aktivite kafesi) kan basıncında anlamlı değişimlere neden olmadığı gösterilmiştir (2,3).

Renal Hipertansiyon Modelleri. Goldbatt hipertansiyon olarak bilinen renal hipertansiyon modelinde egzersizin kan basıncı üzerine etkisini inceleyen çalışmalarda 8, 12 ve 16 haftalık koşu bandı egzersizi istirahattaki kan basıncı değerlerinde anlamlı farklılıklara yol açmamıştır (2,7). “İki böbrek bir klips” modeliyle hipertansif hale getirilen sıçanlarda 6 hafta boyunca sürdürülen gönüllü egzersizin anlamlı kan basıncı düşüşüne neden olduğu gözlenmekle birlikte (4), egzersizin olumlu etkisini saptayamayan çalışmalar çoğunluktadır.

L-NAME Hipertansiyon Modeli. Diğer hipertansiyon modellerine göre daha yeni olan L-NAME hipertansiyon modelinde, egzersizin kan basıncı üzerine etkisini araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. 1999 yılında yayınlanan bir araştırmanın sonuçları bu konuda göze çarpan ilk yayındır. Bu çalışmada egzersiz sonucu, sıçanlarda L-NAME ile oluşturulan hipertansiyonda kan basıncında istatistiksel olarak önemli olmayan, 6.5 mmHg’lık düşme saptanmıştır (19). Diğer yandan, bizim laboratuvarlarımızda gerçekleştirilen bir çalışmada, 4 haftalık düzenli koşma egzersizinin L-NAME ile hipertansif hale getirilen sıçanlarda önemli kan basıncı düşüşüne neden olduğu gösterilmiştir (5). Egzersiz yapan hipertansif gruptaki kan basıncı değerleri düzenli fiziksel aktiviteyle normal değerlere kadar düşmese de egzersizin etkisi ilk haftadan itibaren belirgindi. Ayrıca egzersizin daha sonra başlatıldığı ve 6 haftadır hipertansif olan sıçanlarda da aynı egzersiz protokolü belirgin kan basıncı düşüşüne neden olmuştur.

2.3. Nitrik Oksit

2.3.1. Nitrik Oksitin Keşfi

Küçük bir molekül olan, insan ve diğer memelilerde önemli işlev gören NO'nun geçmişi 25 yıldan öncesine dayanır fakat nitrojen oksit bileşikleri hakkındaki ilk gözlemler ise 1916 yılına kadar uzanır. Bu gözlemler daha sonraki yıllarda büyük bir hızla genişleyen bir araştırma alanı doğurmuştur. Bu konudaki ilk veriler sıçan, domuz ve insan idrarlarında, diyetle aldıklarından daha fazla nitrat bulunmasıdır (44). 1979 yılında ise Gruetter ve arkadaşları eksojen NO'nun damar düz kas hücresinde çözünebilir sitozolik guanilat siklaz (sGC; *soluble guanylate cyclase*) enzimini aktive ettiğini ve hücre içi guanozin 3',5'-monofosfat (cGMP; *cyclic guanosine monophosphate*) artışına yol açarak gevşemeye neden olduğunu göstermiştir (45). Bu bulgu endotel bağımlı damar gevşemesi ve daha sonra NO olarak isimlendirilecek olan endotel kaynaklı gevşetici faktörün (EDRF; *endothelium-derived relaxing factor*) tanımlanmasından önce elde edilmiştir. O yıllardaki araştırmalarda sözü geçen NO'nun kaynağı ilaç olarak kullanılan nitrovazodilatörlerdir. Endojen olarak üretilen NO'nun tanımlanması ve işlevinin aydınlatılması daha sonraki yıllara rastlar. Nitrogliserin, sodyum nitroprussid ve izoamil nitrit gibi nitro ve nitrozo kalıntıları içeren ilaçların klinikte yıllardır kullanılmasına rağmen, 1980'li yıllardan önce bunların etki mekanizması bilinmemektedir (46). Nitrojen oksit bileşiklerinin normal memeli metabolitleri olduğunun belirlenmesi ise 1981 yılındaki araştırma verileriyle olmuştur (44).

Asetilkolinin neden olduğu damar gevşemesinin endotel varlığına bağlı olduğu Furchgott ve Zawadski tarafından 1980 yılında gösterilmiştir ve bu etkinin EDRF olarak bilinen labil bir humoral faktör aracılığıyla gerçekleştiği gibi daha ayrıntılı veriler daha sonra ortaya konmuştur (47,48,49). Takip eden yıllarda endotel bağımlı gevşeme çeşitli uyaranlara cevaben ortaya çıkan bir süreç olarak bazı venleri, arterleri ve mikro damarları içeren pek çok damarda gösterilmiştir (47).

EDRF ve NO'nun farmakolojik davranışlarındaki benzerliklere dayanarak, 1986 yılında Furchgott, EDRF'nin NO olabileceğini ileri sürmüştü ve aynı zamanda Ignarro da EDRF'nin NO veya yakından ilişkili bu tür bir molekül olduğu konusunda tahminler yapmıştır (46,47).

EDRF'nin NO olarak tanımlanması konusunda daha ayrıntılı kanıtlar arasında gevşetici etkileri, trombosit yapışması ve kümeleşmesi üzerindeki inhibitör etkileri ve biyolojik yarılma ömürleri gibi benzerlikler sayılabilir (47). 1987 yılında Palmer EDRF'yi kimyasal olarak NO molekülü şeklinde tanımlamıştır (46,47). Damar endotel hücrelerinde L-arginin amino asidinin NO sentezi için prekürsör olarak kullanıldığı ise 1988 yılında ortaya konulmuştur (47).

2.3.2. NO Molekülünün Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Daha sonra ayrıntılı olarak üzerinde durulacak olan NOS enzimi L-argininden NO üretimini katalizler, NOS 1, 2, ve 3 olmak üzere üç izoenzimi vardır (23,46,47,50,51).

Lokal etki gösteren ve biyolojik haberci rolü olan NO'nun kimyasal yapısı işlevlerini kolaylaştıracak şekildedir. Suda ve yağda çözünbilme özelliği biyolojik membranlardan kolayca difüze olmasını ve hücre içi hedeflerine kolayca ulaşmasını sağlar. Yeni sentezlenen NO'nun etki mesafesi, biyolojik sıvılardaki kısa yarılanma ömrü (3-5 saniye) nedeniyle sınırlıdır (47,50,52,53).

2.3.3. Substrat Olarak L-arginin

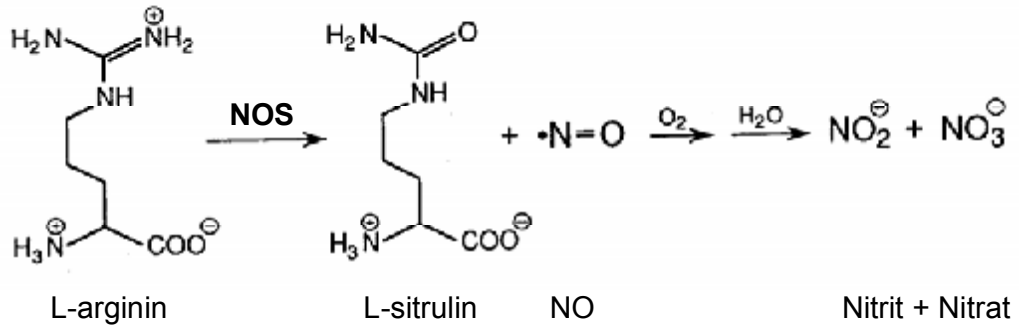
NO üretimi için substrat olarak kullanılan L-arginin amino asidi için sıçan plazmasında saptanan düzeyler 58 μM ile 120 μM arasında değişir. Daha yüksek olan hücre içi konsantrasyonu ise 500 μM ile 1000 μM arasındadır (48,54). L-arginin amino asidinin endotel hücrelerine girmesi, D-arginine göre L-arginine seçiciliği olan bazik amino asit taşıyıcısı (γ^+ taşıyıcı) ile olur (48,55).

NOS dışında L-arginini substrat olarak kullanan diğer enzimler arginaz, arginin-glisin transaminaz, kiyotrofin sentaz ve arginin dekarboksilazdır (48,56). Arginaz üre ve ornitin oluşumunu katalizler. NO üretiminde ikincil ürün olan L-sitrulin, argininosüksinat ara ürün aşamasından sonra tekrar L-arginin sentezinde kullanılabilir (57). Ornitinin sitriline dönüşümü de mümkündür (58). Arginaz ve NOS enzimleri sitotoksik makrofajların metabolizmasında önemli rol oynarlar. Aktive makrofajlarda arginaz enziminin NO üretimini düzenleyici etkisi vardır. L-arginin makrofajlar için eksojen kaynaklıdır ve arginazın bu etkisi muhtemelen hücre içi substrat varlığını kontrol etmesinden kaynaklanabilir (56).

2.3.4. L-arginin Amino Asidinden NO Sentezi

Her NOS izoformunun ayrı ayrı özelliklerine değinmeden önce bu enzim ailesinin katalizlediği ve NO'nun üretildiği reaksiyondan söz etmek gerekir. NOS enzimi L-arginin amino asidinin terminal guanidino grubundaki nitrojenin oksidasyonunu sağlar. Sentez reaksiyonuna katılan diğer moleküller nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinukleotid (FAD), flavin mononukleotid (FMN) ve (6R)-5,6,7,8-tetrahidrobiopterindir (H_4B) (44,50,51). O_2 ve NADPH molekülleri bu reaksiyonda ko-substrat olarak görev alır. Her üç NOS izoformu da prostetik grup olarak FAD, FMN ve *hem* grubu demiri (Fe) içerirken, H_4B ise kofaktördür (51). Kalmodulin ise NOS enziminin katalitik aktivite gösterebilmesi için gerekli başka bir kofaktör (23,46,47,50,51,52). Her NOS izoformu kalmodulin bağlanma bölgesi içerirse de kalmodulinin NOS 2'ye bağlanması onu kalıcı bir alt birim haline getirir (23,53). Eksojen Ca ve kalmodulin NOS 1 ve NOS 3 aktivasyonu için gerekliyken NOS 2'nin aktivasyonu kalmodulinden bağımsızdır (23,46,47,51).

NO sentezini daha iyi tanımlayan deneyler kütle spektrometresi ve radyoaktif azot içeren [¹⁵N]L-arginin kullanılarak yapılmıştır. Buna göre ¹⁵NO, [¹⁵N]L-argininin terminal guanidino grubundan oluşur. Yapısında radyoaktif hidrojen bulunan [³H]L-argininden de [³H]L-sitrulin oluştuğu bulunduktan sonra NO ve sitrulin için elde edilen veriler değerlendirilerek bu iki molekülün aynı enzimatik reaksiyon sonucu oluşan ürünler olduğu belirlenmiştir (47). Ayrıca radyoaktif moleküler oksijen [¹⁸O₂] ve kütle spektrometresi kullanılarak NOS enziminin moleküler oksijeni (O₂) hem NO'ya hem de sitruline dahil ettiğinin belirlenmesi bu enzimin bir dioksijenaz olduğunu göstermektedir (47). Bu reaksiyonun genel hatları Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. L-argininden NO sentezi

2.3.5. Nitrik Oksit Sentaz Enzimi

NO'nin tanımlanmasından sonraki ilk yıllarda bu molekülün üretilmesini katalizleyen NOS izoenzimlerinin sınıflandırılması için sadece enzim proteinlerinin biyokimyasal analizinden elde edilen veriler kullanılmıştır. Gelişen yeni yöntemlerle ve ulaşılan yeni bilgilerle alt sınıflamalar da yapılabilmektedir. Artık günümüzde bu enzimlerin protein yapıları ve genetik baz dizilimleri (cDNA; komplementer deoksiribonukleik asit), hücresel dağılımları ve ekspresyonlarını kontrol eden mekanizmalar hakkında daha ayrıntılı bilgiler mevcuttur (51).

Kullanılan değişik sınıflamalar ve isimlendirmeler arasında tavsiye edileni sayısal isimlendirmedir. Bunun temeli izoformların tarihsel saflaştırma (cDNA izolasyonu) sırasına dayanır (51). Ayrıca enzimin hangi hücre veya dokudan kaynaklandığını tanımlayan veya ekspresyon özelliğini gösteren ek terimler de kullanılmaktadır (NOS1 için nNOS, NOS2 için iNOS, NOS3 için eNOS) (23,46,47,50,51).

NOS enziminin üç izoformu tanımlanmıştır. Bunlardan NOS 1 ve NOS 3 kalıcı ve sabit (konstitütif) ekspresyonu olan enzimler iken, NOS 2, ekspresyonu büyük oranda sitokinler tarafından düzenlenen (indüklenebilir) formdur (23,50,51). Bununla birlikte bazı durumlarda NOS 1 ve NOS 3 izoformlarının ekspresyonu da uyarılabilir. Örneğin, endotelial kayma gerilimi

artışına (*shear stress*) sebep olan kan akımı artışı NOS 3'ün ekspresyonuna neden olmaktadır (16).

NOS 1. Bu izoform ilk olarak sıçan ve domuz beyinciğinden saflaştırılmış (51), ayrıca çeşitli deney hayvanlarında ve insanda immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak ekspresyonu araştırılmıştır. Spinal kordun belli bölümleri, nonadrenerjik nonkolinerjik (NANC) periferik nöronlar, solunum yolu, akciğer, uterus ve midenin epitel hücreleri, pankreas adacık hücreleri ve iskelet kası hücrelerinde bulunduğu gösterilmiştir (23,51). Hücrede sitozolik yerleşim göstermekle birlikte (46,51), iskelet kasında NOS 1 proteininin membranla ilişkisi gösterilmiştir (51). NOS 1, Ca^{+2} /kalmodulin bağımlı bir enzimdir ve aktivitesi hücre içi kalsiyum iyonu (Ca^{+2}) düzeyindeki değişikliklerle düzenlenir (23,50,51,52).

NOS 2. İlk olarak kemirgen makrofajlarından izole edilen bu izoform pek çok hücre tipinde sitokinler (interferon- γ , endotoksin, tümör nekrozis faktör alfa ve beta, interlökin-1), bakterial lipopolisakkaritler (LPS) ve başka pek çok ajan tarafından uyarılabilir (52). *Propionibacterium acnes* ve LPS'ye maruz bırakılan sıçanlarda NOS 2'nin immunohistokimyasal yerleşimi makrofajlarda, dalağın kırmızı pulpasındaki bazı lenfosit, nötrofil ve eosinofillerde, karaciğerdeki endotelial hücrelerde ve hepatositlerde, akciğerdeki alveolar makrofajlarda, böbreküstü bezindeki makrofajlarda ve endotelial hücrelerde, kalın barsaktaki histiositlerde, eosinofillerde, mast hücrelerinde ve endotelial hücrelerde saptanmıştır (51).

NOS 2 izoformunun aktivitesi genelde Ca^{+2} 'den bağımsızdır ve yüksek düzeyde NO üretimi yapabilir (51,52). NOS 2 makrofajların antimikrobal ve antineoplastik aktivitesinde önemlidir. Nitekim NO, parazit veya tümör hücrelerini, ya bu hücrelerin Fe içeren enzimlerini inhibe ederek ya da DNA'sıyla doğrudan etkileşerek ortadan kaldırmaktadır (52,53).

NOS 2'nin immun cevap sırasında uyarılan bir enzim olduğu kabul edilmekle birlikte, kalıcı ve sabit ekspresyonu da vardır. Bu izoforma fetal dokularda da rastlanır; ayrıca belirgin bir immun aktivasyonun gözlenmediği bazı durumlarda da insan bronşiyol epitelinde, alveolar makrofajlarda ve sıçan böbreğinde gösterilmiştir (23).

NOS 3. Bu izoform ilk olarak endotelial hücrelerde tanımlanmıştır. Immunohistokimyasal çalışmalar, aralarında insan dokularının da olduğu birçok farklı dokuda arteriyel ve venöz endotel hücrelerinde bulunduğunu göstermiştir (23,46,50,51). Ayrıca böbrek tubuler epitel hücrelerinde, insan plasentasının sinsitiotroblastlarında, rat hipokampusu nöronlarında ve başka beyin bölgelerinde de saptanmıştır (51). Hücrede membrana bağlı olarak bulunan (23,44,51) NOS 3 aktivitesi Ca iyonoforu, asetilkolin, bradikinin, adenosin trifosfat (ATP), elektriksel uyarı ve sıvı akımıyla uyarılabilir (46,51). NOS 3 enziminin ekspresyonu sabittir ve özellikle dolaşımın düzenlenmesinde, trombositlerin ve polimorf çekirdekli lökositlerin damar lumeniyle olan etkileşiminde önemli role sahiptir (23,46,51).

2.3.6. Nitrik Oksitin Etki Mekanizması

Nitrik oksit başlıca işlevsel etkilerini sGC enzimini aktive ederek gerçekleştirir (23,44,52). Hücre membranından kolayca geçebilen NO, sGC enziminin katalitik bölgesi olan *hem* prostetik grubuna bağlanarak bir nitrozil-hem kompleksi oluşturur ve enzimin aktivasyonuna yol açar (44,46). Enzim aktivasyonu sonucu artan cGMP, hücre içi Ca^{++} konsantrasyonunun düşmesini ve cGMP-bağımlı protein kinazların aktive olmasını sağlar (23) ve böylece NO aracılı etki ortaya çıkar. NO'in başlıca etkileri, düz kasta gevşeme yanıtı oluşturması, trombosit tutunmasını ve kümeleşmesini önlemesi ve polimorf çekirdekli lökosit kemotaksisini inhibe etmesidir. cGMP, bir fosfodiesteraz ailesi tarafından, inaktif 5' nükleotid monofosfatlara dönüştürülerek inaktive edilir (23).

2.3.7. Nitrik Oksitin Metabolizması

Biyolojik membranlardan kolayca difüze olabilen NO'in yarı ömrü birkaç saniye ile sınırlıdır. Son yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron taşıdığı için, aynı zamanda serbest radikal ($\bullet N=O$) olarak ta davranabilir. Saniyelerle ifade edilen bir sürede O_2 ile reaksiyona girerek nitrojen oksit bileşikleri oluşturabilir. Genellikle NO'nun oksidasyonu sonucu oluşan son stabil ürünler nitrit (NO_2^-) ve nitrattır (NO_3^-) (44,46,50,53,59).

NO'in oksidasyonu sonucu oluşan diğer ürünler, nitrozilleyici ajanlar olarak ta bilinen nitroz anhidrit (N_2O_3), dinitrojen tetraoksit (N_2O_4) ve bir serbest radikal olan nitrojen dioksittir ($\bullet NO_2$). Patolojik şartlarda ise NO, süperoksit anyonu (O_2^-) ile de reaksiyona girerek peroksinitrit anyonu ($OONO^-$) ve hidroksil radikali ($\bullet OH$) oluşumuna neden olabilir (60,61).

NO ve redoks formları olan nitrozonium (NO^+) ile nitroksil iyonu (NO^-), tiyol gruplarıyla kolayca etkileşerek S-nitrozotiollerini oluştururlar. Bu reaksiyonlar protein konfigürasyonlarının değişmesine, NO'nun stabilizasyonu, depolanması ve taşınmasına, ayrıca potansiyel toksisiteye sahip yüksek NO düzeylerinin nötralizasyona katkıda bulunur (50). NO'in hızlı oksidasyonu ile oluşan nitrojen oksit bileşikleri glutatyon, sistein ve albumin gibi sülfhidril grupları içeren molekülleri nitrozilleyebilir (53). NO serum albuminiyle reaksiyona girerek S-nitrozo-albümin bileşiği oluşturabilir. Plazmadaki düzeyi serbest NO düzeyinin 3-4 katı kadar olan bu bileşik NO'in dokulara ulaştırılmasında kalıcılığı sağlayan bir depo olarak yorumlanmaktadır (50). Bunun dışında NO'in *hem* grubuna bağlanma özelliği de vardır. Fizyolojik şartlarda daha stabil olan nitrozotiol:NO kompleksini, NO'nun kendisini oluşturan NO sentaz enziminin *hem* prostetik grubuna bağlanabilir ve NOS inhibisyonunu önleyebilir (52). NO ayrıca hemoglobinin (Hb) molekülüne de yüksek afiniteyle bağlanır (52,53). Bu bağlanmayla oluşan kompleks, NO'ü periferik dokulara dağıtan bir taşıyıcı olarak ta görülebilir (52).

2.3.8. Nitrik Oksitin Fonksiyonları

2.3.8.1. Kan Dolaşımını Düzenlemedeki Rolü

Bilinen en güçlü endojen vazodilatatör olan NO, vasküler işlevlerin kontrolünde büyük öneme sahiptir ve dolaşım dengesinin önemli bir düzenleyicisidir. Üretimindeki ve etkisindeki bozukluklar vasküler hastalıkların başlangıcında ve gelişiminde önemli rol oynar. NOS inhibitörleri sistemik vasküler dirençte artışa ve kan basıncının yükselmesine neden olur. Bu veriler damar direncinin dengelenmesinde NO'nun büyük homeostatik rolü olduğunu gösterir (47,50).

Damarların iç yüzeyini döşeyen endotel, kan akımının damar iç yüzeyine uyguladığı sürtünme kuvvetlerinin ve kandaki çeşitli maddelerin etkisine maruz kalır. Kayma gerilimi ve asetilkolin, bradikinin, ATP, trombin gibi maddelerin etkisiyle endotel hücresi içinde artan Ca^{++} endotelial NOS enzim aktivasyonunu tetikleyerek NO sentezine neden olur (46,48,50). Endotel hücresinde oluşan NO'nun bir kısmı damar düz kas hücresine difüze olurken, bir kısmı da kana geçerek dolaşımdaki trombositler ve lökositler üzerinde etkili olur (46,50). Ayrıca eritrositlerin içine de difüze olarak Hb ile bağlanabilir (52). Düz kas hücresine difüze olan NO, sGC enziminin katalitik bölgesine bağlanarak bu enzimi aktive eder. Sonuçta hücre içinde cGMP düzeyi artar ve düz kas hücresinde gevşeme meydana gelir. cGMP artışının gevşemeye neden olması değişik mekanizmalarla açıklanır, fakat temel olarak hücre içi serbest Ca^{++} düzeyinin azaltılması söz konusudur (48,50,52).

cGMP'nin neden olduğu gevşemeyi açıklayan çeşitli mekanizmalar (48) şunlardır: 1. Sarkoplazmik retikulumda Ca^{++} -ATPaz'ın aktivasyonu ile hücre içi Ca^{++} azalması, 2. Miyozin hafif zincirinin defosforilasyonu, 3. Düz kas hücresi membranındaki, reseptör aracılı (*receptor operated*) Ca^{++} kanallarının inhibe edilmesi, 4. Hücre içi Ca^{++} düzeyinin düşmesini sağlayan Ca^{++} taşıyıcılarının, G proteinlerinin, reseptörlerin ve kanal proteinlerinin fosforile edilmesi, 5. Membrandaki Ca^{++} -ATPaz'ın uyarılması, 6. Potasyum kanallarından potasyum geçişinin arttırılmasıyla hiperpolarizasyon oluşması.

2.3.8.2. NO ve Trombosit Aktivitesi

eNOS tarafından üretilen NO sadece damar düz kasına etki ederek vazodilatasyona neden olmakla kalmaz, aynı zamanda damar lümenine difüze olarak trombositlerin damar duvarına tutunmalarını ve kümeleşmelerini de baskılar. Bu etkiler hücre içi cGMP artışıyla ilişkili olup endotel kaynaklı NO'nun antitrombosit özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (50,52). Bunun yanı sıra, insan trombositlerinde nöronal izoforma benzeyen düşük miktarda NOS enziminin bulunduğu da gösterilmiştir. Trombosit ve endotel kaynaklı NO, trombus oluşumunun ve büyümesinin önlenmesine önemli katkıda bulunur (50).

2.3.8.3. NO ve İmmun Sistem

NO'nin immün sistem üzerine etkileri yaygın olarak incelenmiştir. NO, cGMP aracılı mekanizmalar aracılığıyla polimorf çekirdekli lokosit kemotaksisini inhibe eder (52). Bunun dışında cGMP'den bağımsız olarak bazı sitotoksik etkiler de gösterir. Mitokondrial enzimlerin demir-sülfür merkezleriyle etkileşimi sonucu sebep olduğu enzim inhibisyonu sayesinde sitostatik ve tümör hücrelerini öldürücü etkisi ortaya çıkar (52,53). Öte yandan, aktive makrofajlarda NOS 2 ekspresyonunun ve NO üretiminin arttığı da gösterilmiştir. Makrofajlarda NOS 2 ekspresyonunu indükleyen başlıca faktörler LPS ve başta interlökin-1, interferon- γ ve tümör nekroz faktör- α olmak üzere çeşitli sitokinlerdir (52).

2.3.8.4. NO ve Sinir Sistemi

NO'nin öğrenme, hafıza, uyku, beslenme gibi pek çok fizyolojik fonksiyona aracılık ettiği bilinmektedir (48,62,63). Beyindeki NO'nin kaynağı beyin damarlarının entoteli, mikroglia hücreleri ve beyin arterlerini innerve eden nonadrenerjik–nonkolinerjik vazodilatör sinirlerdir. Nörotransmitter fonksiyonu ilk olarak beyinde gösterilen NO, diğer nörotransmitterlerden farklı olarak, sinaptik veziküllerde depolanıp ekzositozla salınımına uğramaz. Eksitator bir nörotransmitter olan glutamat, nöronlarda NO üretimini tetikleyen önemli bir uyarandır (62,63). Postsinaptik bölgeden kaynaklanan NO'nin presinaptik etkiyle glutamat salınımını arttırdığı, sinaptik transmisyonunda stabil bir artışa sebep olduğu ve böylece hafıza oluşumunda retrograd haberci olarak görev yaptığı gösterilmiştir (57).

2.3.9. NOS İnhibitörleri

NO sentezini katalizleyen enzim olan NOS tanımlanıp L-argininden NO sentez yolu aydınlatılmaya çalışılırken L-arginin analoglarının bu yolu inhibe ettiği görülmüştür. NOS inhibitörü olarak etkileri ilk gözlenen L-arginin analogu, yapısında metil grubu bulunduran N-monometil-L-arginindir (L-NMMA veya diğer adıyla L-NMA; N-metil-L-arginin) (44,47). L-arginin amino asidinin yapısına çeşitli gruplar dahil edilerek değişik L-arginin analogları oluşturulmuş ve bunların da NO sentezi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. L-NMMA dışında, N-nitro-L-arginin (L-NA), N-amino-L-arginin (L-NAA), N-nitro-L-arginin-metil ester (L-NAME) ve N-iminoetil-L-ornitin (L-NIO) diğer L-arginin analoglarından bazılarıdır.

NO sentezini inhibe eden L-arginin analoglarından L-NIO sadece konstitütif izoformlara etki ederken, L-NNA, L-NA, L-NMMA ve L-NAME hem konstitütif hem de indüklenebilen NOS izoformlarını inhibe ederler. L-NIO'nun inhibisyon etkisi oldukça güçlü ve geri dönüşümsüzdür. L-NMMA'nın etkisi geri dönüşümlüdür ve etki gücü açısından L-NIO'dan zayıf, L-NAME ve L-NA'dan ise güçlüdür (44,47).

L-NMMA'nın insan damarlarındaki etkisi kol arterine ve el sırtındaki venlere infüzyonuyla araştırılmıştır. Asetilkolin ve bradikininin bu damarlarda oluşturduğu gevşemenin L-NMMA ile önlendiği bulunmuştur (47,53). Benzer şekilde kobaylarda ve köpeklerde de L-NMMA'nın vazokonstriktör ve kan basıncını arttırıcı etkileri gözlenmiştir (47). L-NMMA ve L-NAME'nin ağız yoluyla verilmesi sıçanlarda kan basıncı artışına neden olmaktadır ve çeşitli deneysel modellerde kullanılmaktadır. (23,47,53).

2.4. Egzersizde Mikrodolaşımın Düzenlenmesi

Dokulardaki kan akımı, perfüzyon basıncı (arteriyel-venöz basınç farkı) ve akıma gösterilen damar direnciyle düzenlenir. Normalde arteriyel ve venöz basınçlar dar sınırlar içinde tutulduğundan kan akımının kontrolü büyük ölçüde damar direncinin değişikliğiyle başarılır. Damar direncinin kontrolünü sağlayan mekanizmalar temel olarak iki başlık altında toplanabilir. Bunlar merkezi kontrol mekanizmaları ve lokal kontrol mekanizmalarıdır (64). Merkezi kontrol mekanizmaları sistemik kan basıncının ve merkezi kardiyovasküler homeostazisin korunması için işlev gören mekanizmalar olmalarına karşın lokal kontrol mekanizmaları doku homeostazisinin korunması için çalışırlar.

Koroner veya viseral doku kan akımlarıyla karşılaştırıldığında, dinlenim durumundaki iskelet kası kan akımının oldukça düşük olduğu görülür. İskelet kası kan akımı fiziksel aktivite sırasında aktivitenin şiddetiyle orantılı olarak artar. Fiziksel aktivite sırasında artan besin ve oksijen ihtiyacını karşılamak üzere kan akımının artması egzersiz hiperemisi olarak tanımlanır. Bu artış, merkezi kontrol mekanizmaları, direnç damarlarının lokal vazodilatasyonu ve kas kasılmasının mekanik etkileri gibi faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkar (64,65,66).

2.4.1. Merkezi Kontrol Mekanizmaları

Egzersiz sırasında sistemik vasküler homeostazisin korunmasında görev alan humoral ve nöral kontrol sistemleri kalp aktivitesinin ve vücuttaki bölgesel vasküler tonusun düzenlenmesinden sorumludur. Dinlenimde iskelet kası damarlarındaki tonus, direnç damarlarının miyojenik aktivitesi ve nisbeten yüksek sempatik aktiviteyle belirlenir. Denervasyonla veya α -adrenajik blokörlerle sempatik tonusun ortadan kaldırıldığı durumlarda dinlenimdeki iskelet kasında kan akımının artması, bazal damar tonusunun belirlenmesinde sempatik tonusun önemini gösterir. Sempatik adrenajik aktivite aktif kasta vazokonstriktör etkilerini sürdürmektedir. Örneğin akut lomber sempatektomi sonucu sempatik nöral etkilerin ortadan kaldırılmasıyla, sıçanlardaki arka bacak kan akımı düşük şiddetli egzersiz sırasında daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar düşük şiddetli egzersiz sırasında bile sempatik vazokonstriksiyonla metabolik vazodilatasyon arasında bir yarışın varlığına işaret eder. Fakat lokal faktörlerle belirgin olarak sempatik adrenajik aktivite baskılanır, buna fonksiyonel sempatolizis de denir (64). Egzersiz sırasında sempatik vazokonstriksiyonun sürmesinin nedeni, aktiviteye katılmayan kas gruplarına giden kan akımının azaltılmasıdır. Diğer

yandan sempatik kolinerjik vazodilatasyon egzersiz hiperemisindeki cevapta bileşenlerden biri olarak görülse de egzersizin neden olduğu kan akımı artışının başlıca kas dokusundaki lokal vasküler kontrol sistemleri aracılığıyla gerçekleştiği kabul edilmektedir (64). Ayrıca sempatik kolinerjik liflerin kas dokusundaki varlığı insanlarda gösterilemediğinden, bu mekanizmanın üstünde durulmamaktadır (67).

2.4.2. Lokal Kontrol Mekanizmaları

Her doku gibi iskelet kasının da metabolik hızıyla kan akımı arasında yakın bir ilişki vardır. Kas aktivitesi sırasında artan metabolik ihtiyaca uygun olarak vazomotor cevaplarla kapiller perfüzyonun artması sağlanır. İleride daha ayrıntılı tartışıldığında görüleceği gibi, egzersiz hiperemisine katkıda bulunan faktörleri bazen birbirinden kesin sınırlarla ayırmak mümkün olmamakta ve mekanizmaların birbiri içine geçtiği görülmektedir. Yine de egzersiz hiperemisine katkıda bulunan lokal kontrol faktörleri 1. metabolik kontrol, 2. endotel-aracılı kontrol, 3. miyojenik kontrol, 4. kas pompası ve 5. iletilen ve akım aracılı gevşeme olarak beş grupta incelenebilir.

2.4.2.1. Metabolik Kontrol

Aktif kastaki kan akımının belirlenmesinde başlıca rolü olan etken kas dokusunun metabolik hızıdır. Metabolik hipoteze göre doku metabolizması ile düz kas hücreleri arasında, dokuya gerekli oranda kan akımı artışına aracılık eden bir mekanizma bulunur. Bu kontrol mekanizması dokunun besin veya enerji ihtiyacı ile kan akımı arasında eşleşme sağlayan lokal bir olgudur. Kasılan kastan kaynaklanan metabolitler direnç arteriyollerinin bulunduğu ortamdaki hücrelerarası sıvıya difüze olarak vazodilatasyona sebep olur. Metabolik vazodilatasyonla artan kan akımı ve oksijen ekstraksiyonu, dokunun oksijen ihtiyacına uygun bir düzeyde oksijen desteğine yol açar. Bu şekilde metabolik hipoteze göre egzersiz hiperemisinin sürdürülmesinde dokulara olan oksijen taşınmasının kontrol faktörü olduğu öngörülür. İleride kan akımının metabolik kontrolünde yer aldığı düşünülen maddelerin önemlileri tartışılacaktır (64,68).

2.4.2.2. Endotel Aracılı Vasküler Kontrol

Endotel dokusu ağırlıklı olarak lokal etkilere sahip ve damar düz kas tonusu üzerine belirgin aktiviteleri olan pek çok mediatörün kaynağıdır. Deneysel veriler endotelin vazodilatör ve vazokonstriktör cevaplara katıldığını, pekçok uyarıya cevaben de yapısal damar adaptasyonunda rolü olduğunu ortaya koymaktadır. Endotel dokusu dolaşımdaki kimyasal bileşikler algıladığı kadar sürtünme stresi ve damar gerimi gibi damar duvarına etki eden fiziksel kuvvetleri de algılar ve bu kimyasal veya fiziksel sinyallere cevap olarak vasküler tonusu veya damar yapısını düzenleyen bileşikler salgılar (64,65).

Damar endotelinin pek çok uyarıya cevap olarak salgıladığı vazodilatör bileşiklerin başında prostasiklin (PG-I₂) ve NO gelir. Bunun yanı sıra üzerinde durulan ve yine endotelden kaynaklandığı savunulan diğer bir vazodilatör

bileşik de endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktördür. Endotel hücrelerinden PG-I₂ ve NO salınımı için gerekli hücre içi uyarı serbest kalsiyum düzeyi artışıdır (64).

İskelet kası kan akımının düzenlenmesinde rolü olan ve endotel bağımlı lokal kontrol yolları arasında tanımlanan bir mekanizma da akım aracılı vazodilatör mekanizmadır. Arterlerin akım aracılı gevşemesi intraluminal olarak damar duvarı boyunca artan sürtünme stresinin doğrudan etkisiyle olmaktadır. Kan akımı ve sürtünme stresinin paralel artışları endotel hücre zarındaki Ca⁺⁺ kanallarının açılmasına ve hücre içi kalsiyum artışı aracılığıyla NO salınımına yol açar. Buna ek olarak endotel hücrelerinden ACh salınımına neden olan lokal bir kolinerjik mekanizma da tanımlanmıştır. Salınan ACh komşu endotel hücrelerinde bulunan muskarinik tip reseptörlerine bağlanarak NO salgılatır. Bu nedenle endotel bağımlı ve akım aracılı vazodilatasyon mekanizmalarının iskelet kasındaki vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli katkıları vardır (64,65,69,70).

2.4.2.3. Miyojenik Vasküler Kontrol

Lokal kan akımı kontrolünün miyojenik teoriye göre düzenlenmesinin temelinde yatan varsayım, arteriyoller düzeydeki damar direncinin, gerimin düz kas tonusu üzerindeki etkisine bağlı olduğudur. Buna göre transmural basınçtaki değişikliklere cevaben damar düz kas tonusunu düzenleyen arteriyoller gerim reseptörleri devreye girer. Kasılan iskelet kasındaki hiperemik cevapta bu mekanizmanın katkısı ve önemi çok kesin olmamakla birlikte muhtemel rolünden bahsedilmektedir (68).

2.4.2.4. Kas Pompası

Kas dokusunun lokal kan akımının düzenlenmesindeki katkısı, diğer dokulara göre gösterdiği bir farkla, kasılma ile damarlara dıştan baskı yapmasıdır. Bu mekanizmanın çalışabilmesi için ritmik kas kasılması gereklidir. Ritmik kas kasılmasının pompa etkisi ve venöz kapakçıkların yönü nedeniyle kan kalbe doğru yönlendirilebilir ve kasın gevşediği zaman diliminde venöz alanda "tekrar dolma" sürecine izin verilmiş olur. Tekrarlanan hızlı kasılma ve gevşeme döngüsü venler üzerindeki bası kuvvetinin hızlı değişimine ve sürecin ilerlemesine yol açar. Bu yüzden genel olarak egzersiz sırasında damar iletiminin artmasında katkısı olduğu için bu mekanizma önemli olarak görülür (64,68).

2.4.2.5. İletilen ve Akım Aracılı Gevşeme

Egzersiz sırasında oluşan kan akımı artışından tek başına metabolik vazodilatörlerin sorumlu olması yetersiz bir tanımlama olmaktadır. Metabolik ihtiyacın arttığı aktivite durumunda küçük ve büyük damarların dilatasyonunun uyumlu bir şekilde gerçekleşmesi gerektiği açıktır. Yerel olarak artan kan akımına dolaşımın uyum sağlaması için arteriyel ağın kolaylaştırıcı bir yapısı vardır, bu da çapı büyük olan damarlardan seriler halinde terminal arteriyollerin çıkması ile açıklanır. Mikrodolaşımda başlayıp daha büyük besleyici arterlere doğru iletilen vazodilatasyon fenomenini

tanımlamak için “çıkan-tırmanan vazodilatasyon” terimi önerilmiştir (64). Kas aktivitesinin başlamasından sonraki kısa süreç içerisinde, terminal arteriyoller artan metabolik ürünlerle etkileşecek şekilde hücreler arası sıvıyla temastadır. Vasküler dallanma boyunca değişik tipteki damarlar arasındaki farklar nedeniyle tek bir damarın cevabı tüm vasküler yatağın cevabını temsil etmez. Akıma gösterilen en büyük direnç terminal arteriyoller seviyesindedir, bunun yanı sıra doku düzeyinde uygun perfüzyon basıncının oluşması için besleyici ve iletim tipi arterlerde de genişleme gerçekleşmelidir. Besleyici arterler kas dokusu içinde yer almadıklarından kas dokusundaki hücreler arası sıvıda bulunan vazodilatör maddelere maruz kalmazlar. Arteriyoller genişleyerek üst seviyelerdeki arterlerde kan akım hızı artırılır. Akım hızındaki bu artış endotel üzerindeki sürtünme stresini attırarak NO biyoaktivitesini uyarır ve besleyici arterde vazodilatasyona neden olur. Akım aracılı gevşeme olarak tanımlanan bu durum iletim tipi arterlerde NO biyoaktivitesi artışına bağlanmıştır (65,69,70).

İletilen vazodilatasyonda yerel gevşeme cevabının daha üst seviyedeki damarlara iletilmesi doğrudan endotel hücreleri ve/veya düz kas hücreleri arasındaki eşleşmeyle de gerçekleşir. Egzersiz sırasında endotelden NO salınımını uyararak, damar gevşemesine ve kan akımı artışına yol açan ACh'nin kaynağı motor sinirlerin sinir-kas kavşağıdır. Sinir-kas kavşağından salınan ACh'nin gözlenen diğer bir etkisi de endotelyal hücreler arasında gap junction bağlantılarıyla iletilen bir hiperpolarizasyona neden olarak arteriyoller ağda gevşemeye yol açmasıdır (64).

2.4.3. Egzersiz Hiperemisinde Rolü Olan Güçlü Vazodilatörler

İskelet kasındaki vasküler yatakta fiziksel aktivite sırasında meydana gelen vazodilatasyon basit bir olay değildir ve açıklanmaya çalışıldığı gibi pek çok mekanizmanın eşzamanlı etkisi ve etkileşimiyle gerçekleşmektedir. Farklı mediatörlerin ayrı katkıları yanında aynı mediatörün birden fazla mekanizmada karşımıza çıktığını görüyoruz. Bu nedenle bilimsel verilerle ortaya konmuş ve her birinin egzersiz hiperemisine katkıları bulunan aracı moleküllerin ayrı ayrı tartışılması gerekir.

Kasılan kasta vazodilatasyona yol açan ve kas liflerinden salınan metabolitlerin varlığı 100 yılı aşkın süredir bilinmektedir. Fiziksel aktiviteyle ortaya çıkan kardiyovasküler hemodinamik değişiklikler akut egzersize cevaben aktif kaslara olan kan akımını 50 – 100 kat kadar arttırabilmektedir. Aktivite devam ettiği sürece kastan hücreler arası sıvıya vazoaktif metabolitler salınarak doğrudan terminal arteriyoller üzerine etki ederler (68). Aşağıda egzersiz hiperemisinde sözü geçen mediatörlerden bazıları tartışılırken, bunların arasında yer alan NO ise daha ayrıntılı tartışılacaktır.

Laktat. Kas kasılması sırasında gereksinim duyulan ATP'yi karşılamak üzere, egzersiz şiddetine bağlı olarak anaerobik glikoliz hızı arttığında kasta laktat birikimi olur. Laktatın neden olduğu vazodilatasyonda solubl guanilat siklazın etkili olduğu bilinmektedir. Laktatın önemli bir metabolik vazodilatör olduğu konusunda ise bazı şüpheler vardır. Hücreler arası sıvıda laktat

konsantrasyonu değişmediği halde kan akımının önemli ölçüde arttığına birçok çalışmada gösterilmesi, laktatın kan akımını düzenleyen temel faktör olmasından ziyade yardımcı bir faktör olduğunu düşündürmektedir (65).

Hidrojen iyonu. pH düzeyindeki değişikliklerin birçok dokunun damar tonusunun düzenlenmesiyle ilişkili olduğu bilinmektedir. pH'nın hem hiperkapnik hem de normokapnik şartlarda düşürülmesi hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu azaltır ve böylece düz kas hücrelerinde gevşemeye neden olur. Bu etkinin ardındaki mekanizma net olarak aydınlatılamamakla birlikte hücre dışı pH düşüşünün ATP-duyarlı K^+ kanallarını etkileyerek membran K^+ geçirgenliğini arttırdığı ve düz kas hücrelerinin hiperpolarizasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (65).

Oksijen. Birçok çalışmada kaslardaki kan akımının normoksik egzersize göre, hipoksik şartlarda daha fazla olduğu gösterilmiştir. Fakat bulgular iskelet kası damarlarının oksijen eksikliğine cevap vermesinin yanında, aktif kastaki kan akımını düzenlemede birinci derecede düzenleyici olmadığını kanıtlamaktadır. Şöyle ki; hiperoksi çalışmalarında submaksimal veya maksimal egzersiz şiddetlerinde bacak kan akımının etkilenmediği gösterilmiştir. Buna ek olarak polisitemiyle artan oksijen dağıtımının kasılan kasta kan akımını etkilemediği bildirilmiştir. Yine de oksijen, üzerinde durulan faktörlerden biridir. Çünkü elektriksel uyarıyla oluşturulan kas kasılmaları sırasında arteriyoler oksijen saturasyonu değişmezken, venüler oksijen saturasyonunun azaldığı bilinmektedir. Bu etkiyle venül endotelinden gevşetici faktörlerin salınıp komşuluktaki arteriyollerde gevşemeye neden olduğu öne sürülmektedir. Fakat bu konunun aydınlatılması daha ileri çalışmalar gerektirir (65,68).

Potasyum. Arteriyel kana potasyum infüzyonu sonucu gözlenen vazodilatasyona dayanarak, potasyum egzersiz hiperemisinin bir aracısı olarak öne sürülmüştür. Çünkü kas kasılması sırasında voltaj-bağımlı K^+ kanallarından kas lifinin dışına doğru hızlı potasyum difüzyonu olur. Bu da damarları çevreleyen hücreler arası sıvıda potasyum konsantrasyonunun artmasıyla sonuçlanır. Yapılan araştırmalar kas kasılmaları sonucu hücreler arası sıvıdaki potasyum konsantrasyonunun kasılmanın süresi ve şiddetine bağlı olarak ~9 mM seviyesine kadar yükselebileceğini göstermiştir. Bu sonuçlar ve mikrodializle yapılan başka çalışmalar potasyum konsantrasyon artışını ortaya koysa da kas aktivitesinin başlamasından sonraki süreçte bu olayın zamansal gelişimini çok kısa zaman aralıklarında ayrıntılı olarak tanımlanamamıştır. Fakat son yıllarda spesifik potasyum elektrodu kullanılarak yapılan ölçümlerde hızlı bir hücre dışı potasyum artışı saptanmıştır. Bunun yanında insan ve hayvan deneyleriyle venöz kanda potasyum artış sürecinin kan akımında meydana gelen değişiklikle zamansal olarak uyumlu olduğu da bulunmuştur. Hücre dışı sıvısındaki hızlı potasyum artışı bu iyonun, kas lifinden kaynaklanan ve kasılma sonrası kan akımı cevabını etkileyecek, potansiyel bir vazodilatör olarak öne çıkmasını sağlamıştır (65).

Hücreler arası sıvıda artan potasyum konsantrasyonunun hangi mekanizmayla düz kas gevşemesine ve vazodilatasyona yol açtığı açıkça anlaşılamamıştır. Nernst eşitliğine göre hücre dışında artan potasyumun, depolarizasyon ve vazokonstriksiyon oluşturması beklenir. Hücreler arası sıvıda potasyum konsantrasyonunun ~20 mM seviyesinin üzerinde olduğu durumda Nernst eşitliğinde öngörülenler gerçekleşir, fakat bu seviyenin altındaki değerler hiperpolarizasyon ve vazodilatasyona yol açar. Na-K pompasının artan aktivitesi ve hücre içine doğru potasyum geçiren kanalların (K_{ir}) aktivitesi bu vazodilatör cevaba neden olan araçlar olarak öne sürülmüştür. K_{ir} kanallarının bloke edilmesiyle yapılan çalışmalarda bu kanalların gözlenen vazodilatasyona çok önemli katkıda bulunduğu gösterilmiştir (65).

Adenozin. Uzun bir süre boyunca adenozinin iskelet kası hücrelerindeki adenin nukleotitlerinin kasılmayla uyarılan yıkımından kaynaklandığı düşünülmüştür. Elde edilen güncel verilere göre adenozin başlıca, kas hücrelerinin dış tarafında membrana bağlı olarak bulunan, ekto-5'-nukleotidaz aracılığıyla oluşmaktadır. Kas kasılması sırasında adenozinin hücre dışında oluşması insanlarda şiddetli olmayan kas aktivitelerinde bile hücreler arası ortamdaki artışını açıklar niteliktedir. Aslında belirgin ATP yıkımına neden olan şiddetli egzersizde bile normal iskelet kası hücresi içinde adenozin içeriği artmamaktadır. Adenozinin yıllarca önde gelen metabolik vazodilatör adayı olarak görülmesinin nedeni iskelet kasında üretildiği bilinen, güçlü bir vazodilatör olarak tanımlanmasından kaynaklanır (65,68). Gerçekten de mikrodializ yöntemiyle bacak egzersizi sırasında adenozin konsantrasyonu ile kan akımı arasında güçlü bir korelasyon saptanmıştır. İnsanlarda adenozin reseptör agonisti infüzyonu da egzersizle uyarılan kan akımında ~%20 azalmaya neden olmuştur. Diğer yandan bazı türlerde ne adenozin reseptör blokajı ne de reseptör duyarsızlaştırılması aktif kastaki kan akımını değiştirmemiştir (65). Elde edilen sonuçlar adenozinin egzersiz hiperemisi için esansiyel olup olmadığı konusunda şüpheye yol açmaktadır.

ATP. Dolaşımdaki ATP düzeyleri olduğu kadar kas dokusunun hücrelerarası sıvısındaki ATP düzeylerinin egzersiz şiddetine bağlı olarak arttığı gösterilmiştir. Fakat ATP konsantrasyonundaki değişikliklerle kan akımı arasındaki ilişki net olarak açıklanamamıştır. ATP'nin kaynağı iskelet kası hücreleri değildir. Egzersiz sırasında hücreler arası sıvıya ATP sağlayan potansiyel kaynaklar endotel hücreleri, sempatik sinir sonlanmaları, mekanik deformasyona uğrayan eritrositler ve oksihemoglobin deoksijenasyonu olarak sayılabilir. ATP damar endotelindeki P_{2y} reseptörlerinin aktivasyonu ile vazodilatasyona ve NO, PG ve EDHF gibi vazodilatörlerin salınmasına da neden olur. Bunun yanında ATP de iletilen vazodilatasyonun aracı molekülü olarak gösterilmektedir (65). Vazodilatör purinerjik P_{2y} reseptörlerinin spesifik antagonistinin bulunmaması ATP'nin egzersiz hiperemisindeki rolü konusunda güçlü yorumların yapılmasını engellemiştir.

Prostaglandinler. Damar endotel hücreleri olduğu kadar iskelet kası hücreleri de vazoaaktif prostaglandinler için potansiyel kaynaklardır. Siklooksijenaz (COX) enzimiyle araşidonik asitten prostaglandin H₂ oluştuktan sonra, çeşitli eikozanoid ürünler oluşur (prostaglandin E₂, PG-I₂ ve tromboksan A₂). Prostaglandinlerin oluşumunu sağlayan temel süreç hücre içinde kalsiyum konsantrasyonunun artmasıdır. Fakat bunun yanında NO ve peroksinitrit molekülleri de prostaglandin oluşumuna katkıda bulunurlar (65). Ortama salınan prostaglandin ve prostasiklin molekülleri, hedef hücrelerinden biri olan düz kas hücrelerinde reseptörleri aracılığıyla adenilat siklaz aktivasyonuna ve hücre içi kalsiyum düzeylerinde düşmeye yol açarak vazodilatasyona neden olurlar (71).

Kas kasılmasının prostaglandin üretimi üzerine etkisi vardır. PG-E₂ ve PG-I₂ moleküllerinin her ikisi de kas dokusu tarafından oluştururlar ve egzersiz sırasında kastaki venoz kanda konsantrasyonları artar. Mikrodializ yöntemiyle egzersiz sırasında hücreler arası sıvıda PG-E₂ ve PG-I₂ konsantrasyonlarının arttığı ve PG-E₂ düzeyinin egzersiz şiddetiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. İğınç olarak tromboksan A₂'nin egzersiz sırasında, şiddetiyle ters ilişkili olarak, azaldığı saptanmıştır (72).

Prostaglandinlerin egzersiz hiperemisine katkısını inceleyen çalışmaların sonuçları ise oldukça çelişkilidir. İnsanda kan akımının venoz oklüzyon pletismografisiyle ölçüldüğü çalışmalarda COX inhibisyonunun egzersiz hiperemisini ~%20 kadar azalttığı gözlenirken (73) diğer yandan aynı yöntemle veya ultrason-Doppler tekniğinin kullanıldığı COX inhibisyonu çalışmalarında benzer bir etki görülmemiştir. Deney hayvanlarından elde edilen sonuçların da benzer şekilde çelişkilili olması ve saptanan olumsuz bulgular prostanoitlerin egzersiz hiperemisi için esansiyel olmadığını düşündürmektedir (65).

Endotel Kaynaklı Hiperpolarize edici Faktör. COX ve NOS inhibisyonu sırasında bile bradikinin ve ACh moleküllerinin düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyona ve arteriyel vazodilatasyona neden olması hiperpolarize edici bir faktörün varlığını düşündürmüştür. Bu etkinin altında yatan mekanizma tam olarak aydınlatılamamış olsa da, endoteldeki agonist nedenli hücre içi kalsiyum artışının, Ca⁺⁺-bağımlı potasyum kanallarının aktivasyonu ile endotel hücrelerinde hiperpolarizasyona neden olduğuna inanılmaktadır (74). Bunu takiben hiperpolarizasyon düz kas hücrelerine de iletilir. Bunun için önerilen birkaç yol vardır: bir aracı molekülün endotelden düz kas hücrelerine difüzyonu, miyoendotelyal gap junction bağlantıları aracılığıyla iletim veya endotel hücrelerinden potasyum salınmasıyla Na-K pompası ve/veya potasyum kanallarının aktivasyonu (65).

EDHF'nin doğrudan egzersiz hiperemisinde işe karıştığına dair kanıt yoktur. Bradikininin iskelet kası arterlerinde güçlü bir vazodilatör olduğu gerçeği ve egzersize cevaben iskelet kasındaki hücrelerarası sıvıda arttığının gösterilmesi EDHF'nin egzersiz hiperemisinde bradikinin aracılığıyla etki gösterdiği ihtimalini düşündürmektedir (75).

EDHF dokudan dokuya farklılık gösterdiği gibi, belli bir dokuda pek çok farklı EDHF bulunabilir. Damar yatağında sitokrom P-450 epoksijenaz metabolitleriyle EDHF arasında ilişki kurulmasından dolayı iskelet kasında vazodilatör 11,12-eikozatrienoik asit (11,12-EET) metabolitini oluşturan sitokrom P-450 2C (CYP 2C) enziminin EDHF olduğu öne sürülmüştür. 11,12-EET düz kasta hiperpolarizasyona neden olur (76). Sitokrom P-450 (CYP 2C) 2C9 insan iskelet kasında, başlıca mikrodamarların endotelinde bulunur ve iskelet kası hücrelerinde saptanamamıştır (77). İnsanlarda spesifik CYP 2C inhibitörü olan sulfaphenazole infüzyonu egzersiz sırasındaki kas kan akımını değiştirmemiştir. Yine de CYP 2C gibi diğer sitokrom P-450 izoformlarının olduğu kadar başka moleküllerin de iskelet kasındaki EDHF etkisinde yeri olabileceği unutulmamalıdır. Örneğin sıçan iskelet kası arterlerinde endotelden bağımsız ve oubaine duyarlı vazodilatasyona yol açtığı gözlenen potasyum iyonu, pek çok dokuda bu etkiyle ilişkili bulunmuştur (65).

2.4.4. NO ve Egzersiz Hiperemisi

NO'nun iskelet kaslarında rezistans damarları aracılığıyla bazal vasküler tonusun düzenlenmesindeki temel faktörlerden biri olduğu çok önceden bilinmektedir (64). Egzersiz hiperemisine katkısı ise birçok araştırmaya konu olduğu halde, yönetsel yetersizlik ve/veya farklılıklardan dolayı çelişkili sonuçlar mevcuttur. Yine de günümüzde kas kasılmasının iskelet kası hücrelerinden NO salınımını tetiklediği kesin olarak kabul edilmektedir. NO donörlerinin arteriyel infüzyonuyla iskelet kası kan akımında belirgin artışa neden olduğu bilinmektedir. Bir NO donörü olan S-nitroso-N-acetyl-penicillamine (SNAP)'ın infüzyonuyla insan iskelet kasında ölçülen kan akımı artışının egzersizin neden olduğu artışın yarısı kadar olduğu da saptanmıştır (78). Deney hayvanları ve insanlarda yapılan çalışmaların birçoğu NO'nun bazal kas kan akımı kadar egzersizden sonraki toparlanma sürecindeki akımın düzenlenmesinde de düzenleyici rol oynadığını göstermiştir. Mesela insanlarda NOS inhibitörlerinin infüzyonunun bazal kan akımını %30-50 düzeyinde, toparlanma sürecindeki akımı da %30-40 düzeyinde azalttığı gösterilmiştir (65). Deney hayvanlarında da NOS inhibitörlerinin bazal kan akımında benzer azaltıcı etki gösterdikleri saptanmıştır. Kas kasılmasının neden olduğu kan akımı artışının ise NOS inhibisyonuyla %30 kadar azaldığı yine insan çalışmalarıyla ortaya konmuştur (65). Çoğunlukla kan akımının ölçülmesinde venoz oklüzyon pletismografisi kullanıldığından, NOS inhibisyonuyla ilgili elde edilen veriler sorgulanmaktadır. Bu yöntemle kan akımının ölçülmesi için kas aktivitesinin sona ermesi gerekir, dolayısıyla ölçülen değerler egzersizden sonraki toparlanma sürecinin erken fazı için geçerlidir (78). Bu yüzden sistemik NOS inhibisyonunun kan akımı üzerindeki etkisi saptanamaz. Alternatif olarak ultrason-doppler veya termodilüsyon tekniklerinin kullanıldığı çalışmalarda da benzer sonuçlara varılmıştır. Bunun yanında kullanılan kas preparasyonlarının değişik tipte kas lifi içermesi de göze çarpan bir değişkendir. NO bağımlı vazodilatasyonun düşük-oksidatif kas gruplarına

göre yüksek-oksidatif kapasiteye sahip kas gruplarında baskın olduğu bilinmektedir (79).

NO'nun iletilen vazodilatasyondaki rolü de ön plandadır. Vazodilatör metabolitlerin birikimine cevaben mikrodamarlardaki genişleme bir basınç gradienti yaratır ve endotelden sürtünme stresi uyarısıyla salınan NO aracılığıyla daha üst seviyede yer alan besleyici arterlerde akım-aracılı genişlemeye de neden olur (16,64). Besleyici arterlerdeki akım-aracılı dilatasyonla, metabolik dilatasyon arasındaki, saniyelerle ifade edilen gecikme zamanı da bu görüşü destekler niteliktedir (64).

Besleyici arterlerde NO aracılığıyla gerçekleşen dilatasyon, kastaki perfüzyon basıncı değişmeksizin mikrodamarlarda akımın artmasına izin verir. Damar tonusunun sempatik sinir sistemi tarafından kontrol edilen başlıca alanının besleyici arterler olması nedeniyle, bu mekanizma yerel perfüzyon ihtiyacına karşın sistemik perfüzyon ihtiyacının düzenlenmesine de izin verir. NO, sempatik işlev üzerinde hem besleyici arterler düzeyinde periferik etki, hem de işlevsel sempatoize neden olan merkezi etki sergileyebilir. Periferde endotelial α_2 -adrenoseptörlerin katekolaminlerle uyarılması NO salınımına neden olur. α_2 -adrenoseptörler nedeniyle oluşan vazokonstriksiyon özellikle NO'nun inhibitör etkisine duyarlıdır. Diğer yandan NO'nun, noradrenalin salınımını presinaptik olarak inhibe ettiği de bilinmektedir (16).

Bir üstteki paragrafta sözü edilen mekanizmalardan başka, endotelde NO oluşumu reseptörlerine bağlanan bradikin, asetilkolin ve ATP molekülleriyle veya en önemlisi mekanik bir faktör olan sürtünme stresiyle artar. Kas kasılması sırasında endotel kadar, kas hücreleri de iskelet kası dokusundaki potansiyel NO kaynaklarıdır. İskelet kası hücrelerindeki NOS aktivasyonunun, kasılmayla bağlantılı olarak hücre içinde artan Ca^{++} konsantrasyonu veya NOS fosforilasyonu ve caveolin-3'e bağlanma gibi faktörlerle bağlantılı olduğu kabul edilmektedir (65).

Kas dokusunda NOS ekspresyonu: NOS izoenzimlerinin kas dokusundaki ekspresyonu hem insanlarda hem de deneysel olarak kullanılan küçük memelilerde araştırılmıştır. nNOS hem iskelet kası liflerinde hem de kas dokusunun içinden geçen nöronal aksonlarda eksprese edilir. İmmunohistokimyasal boyamalarla sıçan ve diğer küçük memelilerde nNOS tipinin başlıca hızlı liflerde ve bunların da sarkolemmaya yakın bölgelerinde bulunduğu belirlenmiştir (80). Sinir-kas kavşağının motor son plak bölgesinde de nNOS yoğunlaşması da saptanmıştır. Kasta, egzersizle nNOS aktivitesinde artış olduğunu gösteren bulgular da literatürde yer almaktadır. Aynı zamanda mitokondriyle yakın komşuluğu ve tip II kas liflerindeki bolluğu dikkat çekmiştir (81).

Primer yerleşimi damardaki endotel hücreleri olan eNOS tipi, kas dokusunda bulunan diğer bir izoformdur. İmmunohistokimyasal boyamalarla kas liflerinde heterojen dağılıma sahip olduğu ve mitokondriyal bir enzim olan

süksinat-dehidrogenaza yakın olarak bulunduğu saptanmıştır. Kas homojenatlarından elde edilen mitokondriyal fraksiyonlarda Ca^{++} -bağımlı NOS aktivitesinin yüksek olması bu bulguyu destekler niteliktedir. nNOS izoformu gibi bu tip NOS aktivitesi de uyarılabilir özelliktedir ve egzersizle arttığı saptanmıştır. İnsanda ise eNOS enzimi sadece damar endotelinde saptanmıştır (80).

iNOS'un kas dokusunda sabit bir ekspresyonu yoktur, fakat inflamatuvar uyarıya cevaben ekspresyonu artar. İmmunohistokimyasal olarak ve izole hücrelerde yapılan çalışmalarla iNOS'un iskelet kası hücrelerinde olduğu kadar hem endotel hücrelerinde hem de kas içindeki makrofajlarda arttığı bulunmuştur (82).

2.5. Amaç ve Hipotez

NOS inhibisyonu ile 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 biridir. Ayrıca düzenli egzersizler sonucu NO üretiminde olumlu yönde değişiklikler olduğu iyi bilinmektedir. Bu bilgiler gözetilerek planladığımız şimdiki çalışmada amacımız NOS inhibisyonu ile hipertansif hale getirilen sıçanların düzenli egzersizler sonucu rezistans damarlarındaki yanıt değişikliklerini ortaya koymaktır.

Hipotez: NOS inhibisyonuna bağlı hipertansiyon modelinde bozulan direnç damarlarının yanıtları, düzenli fiziksel aktiviteyle düzelir ve bunda egzersize bağlı olarak artan NOS enzimi proteininin rolü vardır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilen bu çalışmada toplam 80 adet, 8 haftalık, genç erişkin, dişi Wistar sıçan kullanıldı. Sıçanlar Deney Hayvanları Ünitesinden sağlandı ve sıcaklığı $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ olan ve 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık periyodu uygulanan bir odada tutuldu. Ticari sıçan yemi ile beslenen ve musluk suyu verilen hayvanlar serbest yem ve su tüketimine bırakıldı.

Çalışmanın başında sıçanlar rastgele dört gruba ayrıldı ve gruplandırma aşağıda gösterildiği şekilde yapıldı:

- a) Kontrol grubu (K, n=20)
- b) Egzersiz grubu (E, n=20)
- c) Hipertansif grup (H, n=20)
- d) Hipertansif egzersiz grubu (HE, n=20)

3.1. Egzersiz Protokolü

Egzersiz gruplarına fiziksel aktivite modeli olarak yüzme egzersizi uygulandı. Hayvanların yaptığı yüzme egzersizi için çeşme suyuyla doldurulan ve su sıcaklığı $33\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar ısıtılan $50\times 50\times 100$ cm boyutlarındaki cam akvaryum kullanıldı. Sıçanların gece aktif olan hayvanlar oldukları göz önüne alınarak, yüzme antrenmanları sıçanlar için ayarlanan ışık düzeninin karanlık periyodunda, karanlık bir odada yaptırıldı. Yüzme egzersizinden sonra hayvanlar kurularak kafeslerine yerleştirildi. Egzersiz protokolünün ilk günlerinde aşamalı alıştırma yöntemi uygulandı ve amaçlanan günlük egzersiz süresine birkaç gün içinde ulaşıldı. Yüzme sıçanlar 6 hafta boyunca haftada 5 gün, günde 1 saat olmak üzere antrenman sürecini tamamladı. Hipertansif egzersiz grubundaki yüzme egzersizi L-NAME verilmesiyle eşzamanlı olarak başlatıldı ve paralel devam ettirildi. Uygulanan çeşitli egzersiz protokolleriyle kıyaslandığında, bu sıçanlarda kullanılan egzersiz şiddetinin $VO_{2\text{ MAX}}$ 'ın %55-60'ına karşılık geldiği görülür (42). Bu özelliği nedeniyle bu protokol düşük-orta şiddetli bir aerobik egzersiz sayılabilir.

3.2. Hipertansiyonun Oluşturulması

Hayvanlardaki hipertansiyon seçici olmayan bir NOS inhibitörü olan L-NAME'nin ($\text{C}_7\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_4\cdot\text{HCl}$) içme suyuna ilave edilmesiyle oluşturuldu. Kullanılan L-NAME'nin dozu hayvanlardaki içme suyu tüketimi belirlenerek hesaplandı ve amaçlanan dozun alınması sağlandı. L-NAME'li içme suyu 2 günde bir tazelenildi ve önceden artan içme suyu tekrar kullanılmadı. Bu

şekilde hipertansif gruptaki sıçanlar 6 hafta boyunca günde 25 mg/kg dozunda 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

6 haftalık deney süresinin sonunda tüm gruptan doku örnekleri alındı. Deneyin sonlandırılması işlemi egzersiz gruplarında son egzersizden 48 saat sonra yapıldı.

Uygulanan eter anestezisinden sonra karınları açılan hayvanlar kansızlaştırılarak feda edildi. Hayvanların her iki bacağındaki tüylü deri kesilip dikkatlice soyulduktan sonra iki bacadaki *gastocnemius* kasları damarların zedelenmeyeceği şekilde çıkarıldı. Buzda bekletilen modifiye Krebs-Henseleit solusyonuyla (110 mM NaCl, 5 mM KCl, 24 mM NaHCO₃, 1 mM KH₂PO₄, 1 mM MgSO₄·7H₂O, 2,5 mM CaCl₂, 10 mM glukoz, 0,02 mM EDTA) yıkanan kas örneklerinden direnç damarının izolasyonu için mikrodiseksiyon aşamasına geçildi.

Diseksiyon mikroskobu kullanılarak (OLYMPUS-SZ61), uygun büyütme derecesinde arter-ven ayırımı yapıldıktan sonra *gastrocnemius* kasını besleyen iletim tipi arterin dallarından ayrılan direnç arteri belirlendi. Dallanma gözlenmeyen bölgesinden 2 mm'yi geçmeyen boydaki damar parçası izole edilerek etrafındaki bağ ve yağ dokuları uzaklaştırıldı. Alınan damar segmentleri telli miyograf sistemine (*EMKA Technologies, Paris-France*) veya mikropipetle kanüle edilen basınç kontrollü miyografa (*Living Systems Instrumentation, VT-USA*) mikroskop altında yerleştirildi. İzole edilen direnç damarlarının çapı yaklaşık olarak 200 ile 250 µm arasındaydı.

3.4.1. Telli Miyograf Çalışması

Gastrocnemius kasının içine giren ve ikiye ayrılan, besleyici-iletim tipi arterinin devamına uzanan mikrodiseksiyonla rezistans arteri segmenti izole edildi. Damar örneği soğuk diseksiyon ortamından alınarak 37°C'lik Krebs-Henseleit solusyonu bulunan ve ortasında damarın miyografa yerleştirilmesine yardımcı olan özel bir düzeneği bulunan petri kabına konuldu. Bir ucu vidalanarak sabitlenmiş 25 µm çapındaki tungsten tel, ince uçlu forseps yardımıyla damarın içinden geçirildi. Bu işlem sırasında özellikle telin serbest ucunun damar lumeni içindeki hareketi sırasında endotel tabakasının zedelenmemesine dikkat edildi. Tungsten telin serbest ucu da vidalandıktan sonra ikinci bir tel damarın lumeni boyunca ilerletilerek preparasyonun miyografa yerleştirilmeden önceki aşaması tamamlandı.

Hazırlanan preparasyon banyo hacmi 10 ml olan ve dışsal ısıtma ile içindeki solusyonun sıcaklığını 37°C'de sabit tutulan miyograf haznesine yerleştirildi. Damar parçasına mekanik kuvvet uygulanmadan, serbest tel uçları izometrik kuvvet transdüserinin karşısında bulunan simetrik düzeneğe vidalanarak sabitlendi. Bazal duvar gerimi saptanmadan 15 dakikalık bir süre için damar parçası organ banyosunda dinlendirildi.

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 ve her damar preparasyonu o örnek için saptanan bazal gerimde bekletildi.

Isıtılan banyo solusyonunun 15 dakikada bir değiştirildiği miyograf haznesi çalışma protokolleri boyunca %5 CO₂ - %95 O₂ gaz karışımıyla gazlandırıldı. Bir saatlik bekleme süreci sonrasında damar cevaplarının sağlıklı olarak elde edilebilmesini kolaylaştıran ve damar için bir ön-uyarılma sayılan vitalizasyon aşamasına geçildi. Bunun için 20 mM KCl içeren banyo solusyonuna ayrıca 10⁻⁷ M konsantrasyonda noradrenalin (NA) ilave edildi. Bu şekilde 3 defa kasılması sağlanan damar preparatı her uygulamadan sonra normal Krebs-Henseleit solusyonuyla yıkandı. Takip eden süreçte 30 dk dinlenme periyodu uygulandı.

Deney protokollerine başlamadan önce damarlardaki endotel dokusunun sağlam olup olmadığı araştırıldı. 10^{-6} M NA ile kastırılan damara aynı konsantrasyonda ACh uygulanarak gevşeme cevabının olup olmadığı ve büyüklüğü saptandı. %60 ve üzerinde gevşeme cevabı sergileyen damarlar endotel pozitif olarak değerlendirildi. Endotel cevabı olmayan veya çok zayıf olan damarlar endotelsiz protokolde kullanıldı.

Damar düz kasının kasılma gücünün saptanması için 80 mM KCl içeren banyo solusyonu kullanıldı. İlave edilen fazladan K iyonu konsantrasyonuna eşdeğer Na iyonu solusyon içeriğinden çıkarılarak, yerine koyma yöntemiyle belirtilen düzeyde KCl içeren çözelti hazırlandı. Bu aşamadan sonra damarlar 30 dk dinlenme süresine bırakıldı.

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.

Noradrenalin: artan dozda NA kümülatif olarak (10^{-9} – 3×10^{-6} M) uygulandı ve kasılma cevabı kaydedildi.

Sodyum nitroprussid: 10^{-6} M dozunda NA ile kastırılan damarların NO donörü olan sodyum nitroprussid (SNP)'nin artan dozdaki (10^{-9} – 10^{-5} M) konsantrasyonlarda gevşeme yanıtları saptandı.

Asetilkolin: damarların ACh doz-yanıt eğrisini saptamak için 10^{-6} M NA ile kasılmasını takiben kümülatif ACh dozlarına (10^{-9} – 10^{-6} M) verilen gevşeme cevapları elde edildi.

ACh protokolü NOS enziminin substratı olan L-arginin varlığında (10^{-3} M, 30 dk preinkubasyon) ve seçici olmayan NOS inhibitörü L-NAME varlığında (10^{-4} M, 20 dk) tekrar edildi. Düz kas hücrelerine difüze olan NO'nun gevşetici etkisini inhibe etmek için, hedefi olan solubl guanilat siklaz enziminin inhibitörüyle (*1H-[1,2,4]Oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one*, ODQ) 10^{-5} M dozda, 30 dk inkubasyon sonrasında da yine kümülatif ACh dozlarıyla (10^{-9} – 10^{-6} M) elde edilen gevşeme yanıtları değerlendirildi. Diğer bir protokolde ise L-NAME'in yanı sıra siklooksijenaz enzim inhibitörü olan İndometasin (10^{-5} M), seçici olmayan potasyum kanal blokörü olan Tetraetil amonyum (10^{-3} M) ve voltaja duyarlı potasyum kanalı blokörü olan 4-Aminopiridin varlığında (10^{-3} M, 20 dk eşzamanlı preinkubasyon) artan dozda ACh (10^{-9} – 10^{-6} M) ile elde edilen gevşeme yanıtları saptandı. İndometasin ile prostaglandinlerin, Tetraetil amonyum ve 4-Aminopiridin ile EDHF'nin gevşemedeki katkısına yaklaşım yapılmaya çalışıldı.

Endotelsiz damarlara ise yukarıda tanımlanan NA doz-yanıt protokolünün aynısı uygulandı, bunun yanı sıra artan dozdaki SNP'ye verilen gevşeme cevapları da kaydedildi.

Damar cevaplarının sayısal değerlerini elde etmek için veri toplama sistemiyle bilgisayara kaydedilen miyogramlar kullanıldı (*IOX-Datanalyst 2.0.0.6, EMKA Technologies*). Aşamalı olarak artan NA dozlarına verilen

kasılma cevapları damarların sergilediği net gerim şeklinde gram cinsinden ifade edildi. ACh ve SNP'ye verilen gevşeme yanıtları ise bu ajanların her dozu için 10^{-6} M NA'nın neden olduğu maksimal gerime göre % azalma şeklinde hesaplanarak ifade edildi. Her protokol için saptanan doz-cevap eğrilerinin verileri, değişik dozlar için 5-9 damar preparasyonundan elde edilen değerlerin ortalaması şeklinde sunuldu.

3.4.2. Basınç miyografı çalışması

Akım aracılı gevşeme yanıtları basınç miyografı kullanılarak değerlendirildi. Daha önce belirtildiği şekilde izole edilen *gastrocnemius* kaslarından izole edilen ~200 µm çapındaki dal içermeyen damarlar, Krebs-Henseleit solusyonu içeren damar banyosuna alınarak iki adet cam mikrokanül aracılığıyla kanüle edildi. Damar segmentinin iki ucu ince ipek iplik kullanılarak bağlandıktan sonra 37°C'de, 1 saatlik dinlenme periyoduna bırakıldı. Servo-kontrollü basınç ünitesi aracılığıyla (*Pressure servo control unit – Peristaltic pump, Living Systems Instrumentation, VT-USA*) dinlenme periyodunun ilk 20 dakikası süresince intraluminal basınç 45 mmHg, geri kalan 40 dk boyunca ise 65 mmHg düzeyinde sabit tutuldu. Dinlenme periyodu boyunca her 15 dakikada bir arteriyoller taze Krebs-Henseleit solusyonuyla yıkandı. 1 saatlik dinlenme periyodunun sonunda damarların büyük kısmı başlangıç çaplarına kıyasla en az %25 oranında spontan tonus oluştururken bazı damarların kasılması banyo sıvısına noradrenalin eklenerek sağlandı (10^{-8} – 10^{-6} M). Tüm deney protokolleri intraluminal basınç 65 mmHg düzeyinde iken gerçekleştirildi.

Akım aracılı gevşeme yanıtları tüm gruplarda artan damar içi akıma cevaben oluşan damar iç çapı değişikliklerinin ölçülmesiyle değerlendirildi. Deney protokolleri boyunca ortaya çıkan damar iç çapındaki değişiklikler inverted mikroskoba bağlı (*Nikon Eclipse TS100, Japan*) video-kamera sistemi aracılığıyla sürekli ölçüldü (*Sony XC73CE*) ve kayıtları veri toplama sistemiyle bilgisayar ortamına aktarıldı (*MP100-CE, BIOPAC Systems, CA-USA*). Damar içi akım hızı 7, 16, 26, 35 ve 62 µl/dk olacak şekilde aşamalı olarak artırıldı ve her bir akım hızında damar çapı değişiklikleri 5 dk boyunca izlendi. Tüm deney gruplarında akım aracılı gevşeme yanıtları bazal şartlarda ve sonrasında banyo sıvısına eklenen L-NAME varlığında değerlendirildi (20 dk inkubasyon, 10^{-4} M). Her bir akım aşamasında ortaya çıkan çap değişimi, spontan tonusun olduğu durumda saptanan iç çap değerinin yüzdesi (%) şeklinde ifade edildi.

3.5. Western Blot Analizi

3.5.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması

İzole edilip dondurulan çizgili kas ve damar dokuları öncelikle 30 dk boyunca buzlu ortamda proteaz inhibitör kokteyli içeren (Sigma, P8340) lizis tamponunda bekletildi. Damar dokularının küçük olması nedeniyle aynı grupta yer alan 2 hayvanın örnekleri birleştirildi. Daha başarılı bir homojenizasyon için kaslar küçük parçalara bölündü. Buz üzerinde, 10 saniyelik sonikasyonla elde edilen homojenatlardan 2 aşamalı santrifüj işlemiyle (10 dk-8000 rpm; 15 dk-15000 rpm) ayrılan supernatantlarda protein ölçümü yapıldı (*Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA-USA*). Eşit miktarda protein içeren örnekler hazırlandı ve protein denatürasyonu için numuneyle eşit hacimde *2xLaemmli* tamponu (Sigma, S3401) karıştırıldı. Karışım vorteks aşamasından sonra 5 dk 95°C'lik suda bekletildi ve santrifüj (5 dk-8000 rpm) işleminden sonra supernatantı alındı.

3.5.2. Elektroforez ve Blotlama İşlemleri

Proteinlerin sodyum dodesil sulfat – poliakrilamid jelde elektroforetik olarak ayrılması için %7.5'lik jel kullanıldı. Moleküler ağırlık standardı (*Bio-Rad Laboratories*) ve numuneler kuyucuklara yüklenerek 2 saatlik elektroforez aşamasına geçildi. Bunun ardından jelde moleküler ağırlığına göre ayrılmış olan proteinler nitroseluloz membrana aktarıldı ve %5'lik yağsız süt tozu içeren tampon kullanılarak 1 saatlik bloklama işlemi uygulandı.

Primer antikor uygulamasından önce nitroseluloz membranlar 30 dk boyunca 4 kez tazelenen tampon kullanılarak yıkandı. Ayrı membranlar nNOS, eNOS ve iNOS için sırasıyla 1:2000, 1:1500 ve 1:1000 sulandırma oranında primer antikor solüsyonlarıyla (Sigma, N7280, N3893, N7782) 1 gece boyunca 4°C'de devamlı çalkalanarak muamele edildi. Sonrasında spesifik olmayan bağlantıların görüntülenmesini engellemek için yine 30 dk boyunca membranlar devamlı çalkalanarak yıkandı. Sekonder antikor uygulaması için 1:7000 oranında sulandırılmış, peroksidaz-konjuge antikor solüsyonu kullanıldı (Chemicon, AP132P). 1 saatlik inkübasyon sonrasında görüntüleme aşamasına geçildi. Yöntemin pozitif kontrol aracı olarak hücrelerde sabit ekspresyonu olan gliseraldehit-3-fosfat-dehidrogenaz (GAPDH) proteinine özgü antikor kullanıldı (Santa Cruz Biotechnology, F1335-primer, F2705-sekonder).

3.5.3. Görüntüleme ve Değerlendirme

Sekonder antikorla konjuge peroksidaz enziminin, kemiluminisans oluşturan ürünü için substrat içeren ECL reaksiyon karışımı (*RPN2132, GE Healthcare Amersham-UK*) nitroseluloz membranların üzerine uygulandı. 5 dk bekleme sürecinden sonra fotoğraf filmi (*Hyperfilm*) kullanılarak spesifik antikor bağlanmalarının yeri film üzerinde belirlendi.

Görüntülerin yarı-kantitatif analizi için bilgisayar ortamına aktarılan film paternleri bilgisayar yazılımı yardımıyla değerlendirildi (*Scion Image*). Sonuçlar her grup için ünite cinsinden ifade edildi.

3.6. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verildi. Tekrarlı olmayan verilerin istatistiksel değerlendirilmesi tek yönlü varyans analiziyle, gruplar arası karşılaştırma ise Newman-Keuls testi kullanılarak yapıldı. Tekrarlayan ölçümlerle elde edilen farklı ajan dozlarındaki kasılma/gevşeme cevaplarının değerlendirilmesinde 2 yönlü varyans analizi kullanıldı. Noradrenalin ve asetilkolinin sigmoid doz-cevap eğrilerinde maksimal cevabın yarısını oluşturan efektif konsantrasyon değerleri (EC_{50}) lineer olmayan regresyon analizi kullanılarak hesaplandı. Elde edilen verilerin negatif logaritmik değerleri alınarak sonuçlar pD_2 şeklinde ifade edildi, gruplar arası karşılaştırma tek yönlü varyans analizi ve Newman-Keuls testleriyle yapıldı. İstatistiksel önemlilik derecesi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

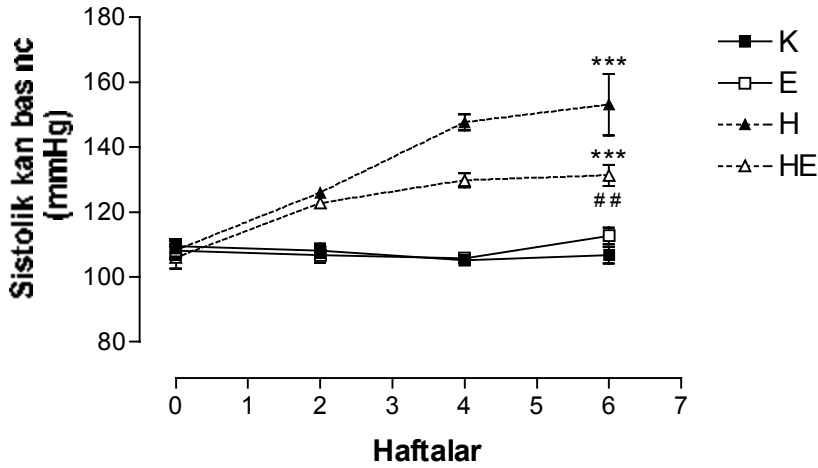
BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı

Deney sonlandırılırken ölçülen vücut ağırlıkları K grubunda $234 \pm 7,57$ g, E grubunda $247,5 \pm 7,79$ g, H grubunda $243,3 \pm 9,89$ g, HE grubunda da $232,5 \pm 8,96$ g olarak bulundu. Vücut ağırlıkları yönünden gruplar arasında fark saptanmadı.

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 diğer gruplardakine göre yüksekti. Deney sonunda H ve HE gruplarındaki kan basınçları K grubuna göre önemli düzeyde yüksek bulundu ($p < 0,001$). Ayrıca HE grubunda daha düşük olan kan basıncı değerleri ile H grubu arasında önemli fark saptandı ($p < 0,01$).



Şekil 4.1. Deney gruplarındaki sistolik kan basıncı değerleri (mmHg). K grubundan fark, *** $p < 0,001$, H grubundan fark, ## $p < 0,01$

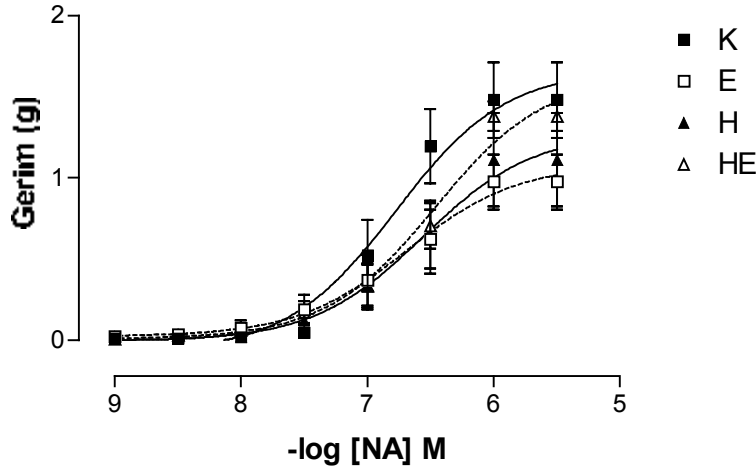
4.3. Telli Miyografta Değerlendirilen Damar Cevapları

4.3.1. KCl Cevapları

80 mM K iyonu içeren banyo solusyonunda damarların sergilediği kasılma cevapları gruplar arasında farklılık göstermedi (E_{max} (g); K $1,15 \pm 0,16$; E $1,06 \pm 0,11$; H $1,06 \pm 0,08$; HE $1,16 \pm 0,16$).

4.3.2. Noradrenaline Verilen Kasılma Yanıtları

Artan dozda NA ($10^{-9} - 3 \times 10^{-6}$ M) ile elde edilen doz-yanıt eğrileri Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Grupların NA yanıt eğrileri arasında herhangi bir istatistiksel fark saptanamadı. Ayrıca her grup için hesaplanan pD2 değerleri açısından gruplar arasında önemli bir fark saptanamadı (K $6,91 \pm 0,19$ M, E $6,43 \pm 0,26$ M, H $6,34 \pm 0,35$ M, HE $6,13 \pm 0,20$). Maksimal kasılma yanıtları da benzer şekilde gruplar arasında farklı değildi (Tablo 4.1).



Şekil 4.2. Rezistans arterlerindeki noradrenalin ($10^{-9}-3 \times 10^{-6}$ M) doz-cevap eğrileri.

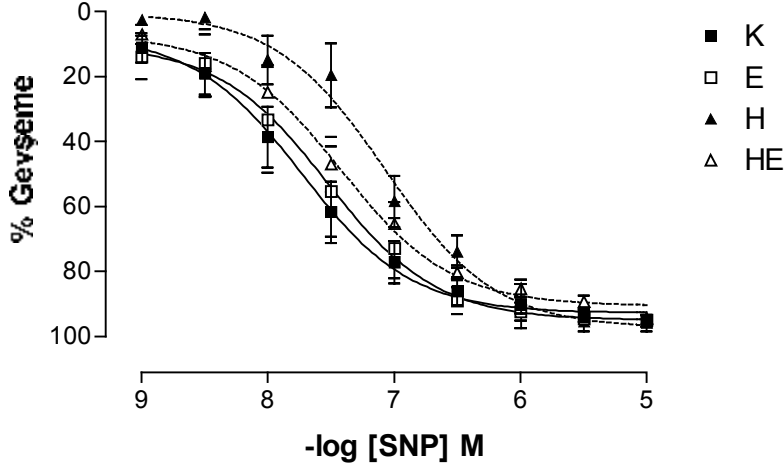
Tablo 4.1. Değişik protokollerde direnç damarlarının sergilediği maksimal cevap değerleri (E_{max}); veriler noradrenalin için gram, diğer ajanlar için % gevşeme şeklinde gösterilmiştir.

Protokol	K	E	H	HE
NA (g)	$1,48 \pm 0,23$	$1,18 \pm 0,14$	$1,11 \pm 0,29$	$1,38 \pm 0,09$
SNP (%)	$95,3 \pm 1,8$	$95,2 \pm 1,1$	$95,9 \pm 2,5''$	$94,5 \pm 1,2''$
ACh (%)	$70,1 \pm 6,9$	$74,4 \pm 4,9$	$47,8 \pm 5,1^*$	$70,8 \pm 4,5^\#$
L-arg (%)	$89,9 \pm 1,6$	$79,3 \pm 4,9$	$57,8 \pm 9,5^*$	$82,2 \pm 4,8^\#$
L-NAME (%)	$56,4 \pm 8,5$	$57,7 \pm 8,2$	$23,7 \pm 7,5^*$	$58,3 \pm 4,4^\#$
ODQ (%)	$55,3 \pm 6,1$	$60,3 \pm 8,2$	$43,4 \pm 8,8''$	$49,8 \pm 6,4''$
L-NAME + Indo + K inh (%)	$18,8 \pm 6,0$	$17,7 \pm 9,3$	$14,6 \pm 14,6$	$17,3 \pm 7,7''$

K grubundan fark, * $p < 0,05$; H grubundan fark, # $p < 0,05$

4.3.3. Sodyum Nitroprussid ile Elde Edilen Gevşeme Yanıtları

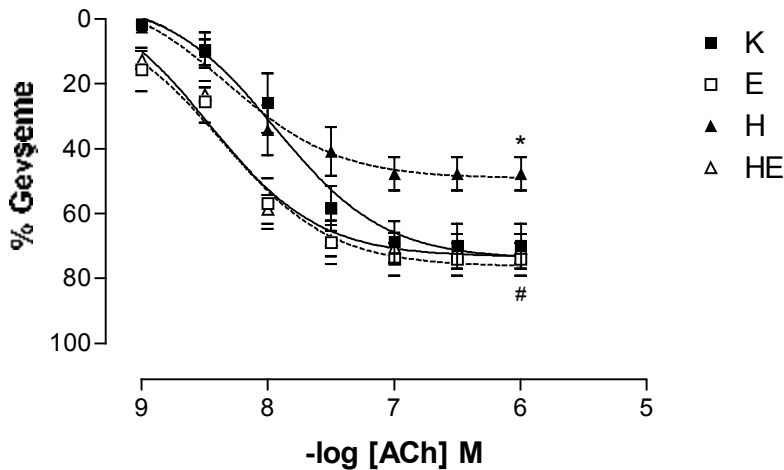
SNP'nin kümülatif dozlarıyla (10^{-9} – 10^{-5} M) elde edilen doz-yanıt eğrileri Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Grupların SNP'ye verdikleri doz-yanıt eğrilerinde ve ulaşılan maksimal gevşeme cevapları arasında önemli bir fark saptanmadı (Tablo 4.1).



Şekil 4.3. Direnç damarlarında sodyum nitroprussid (10^{-9} – 10^{-5} M) ile elde edilen gevşeme cevapları.

4.3.4. Asetilkoline Verilen Gevşeme Cevapları

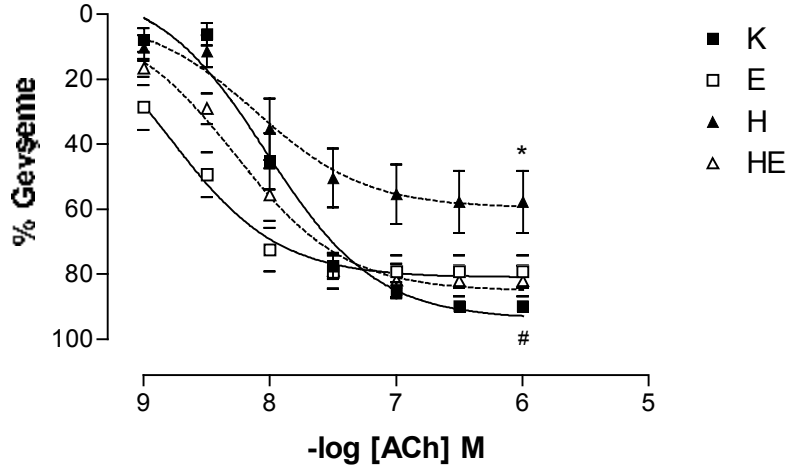
Artan dozda ACh (10^{-9} – 10^{-6} M) ile gruplarda saptanan doz-yanıt eğrileri Şekil 4.4'te gösterilmiştir. ACh gevşeme yanıtlarının tekrarlayan ölçümleri için iki yönlü varyans analizi sonucu eğriler arasında istatistiksel olarak önemli fark bulundu ($p < 0,05$). Maksimal gevşeme yanıtları yönünden karşılaştırıldıklarında, H grubundaki değerler K grubundakilerden önemli düzeyde düşük olarak saptandı ($p < 0,05$). Ayrıca HE grubundaki yanıtlar da H grubundakilerden önemli ölçüde ($p < 0,05$) yüksekti (Tablo 4.1). Hesaplanan pD₂ değerleri K grubu için $7,94 \pm 0,17$ M, E grubu için $8,36 \pm 0,22$ M, H grubu için $8,31 \pm 0,24$ M ve HE grubu için $8,47 \pm 0,16$ M olarak bulundu ve bu değerler arasında istatistiksel açıdan fark saptanmadı.



Şekil 4.4. Rezistans arterlerinde ACh (10^{-9} – 10^{-6} M) uyarısıyla elde edilen gevşeme cevapları. K grubundan fark, * $p < 0,05$; H grubundan fark, # $p < 0,05$

4.3.5. L-arginin Varlığında Saptanan Gevşeme Yanıtları

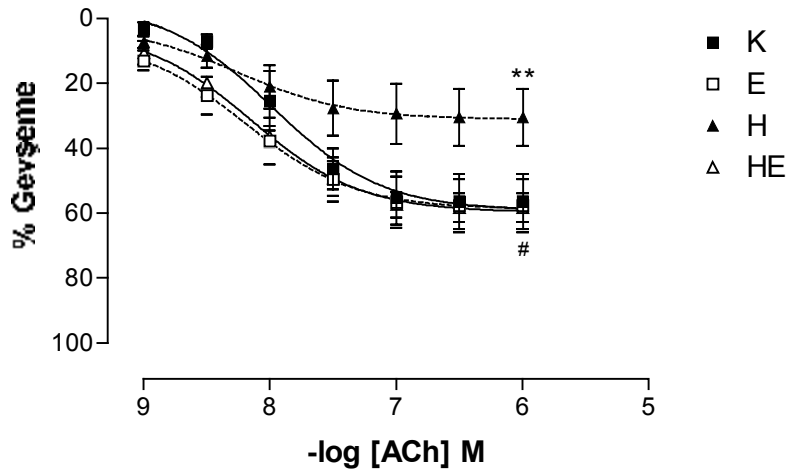
L-arginin ile inkubasyon sonrasında saptanan ACh aracılı gevşeme yanıtları Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Grupların doz-yanıt eğrilerinde önemli düzeyde ($p<0,01$) istatistiksel fark vardı. H grubunun sergilediği maksimal gevşeme yanıtları K grubundakilerden önemli düzeyde düşük olarak bulunurken ($p<0,05$), HE grubundaki değerler de H grubundakine göre önemli derecede ($p<0,05$) yüksekti (Tablo 4.1).



Şekil 4.5. L-arginin (10^{-3} M) inkubasyonu sonrasında saptanan ACh-gevşeme yanıtları. K grubundan fark, * $p<0,05$; H grubundan fark, # $p<0,05$

4.3.6. L-NAME İnhibisyonuyla Gözlenen Damar Cevapları

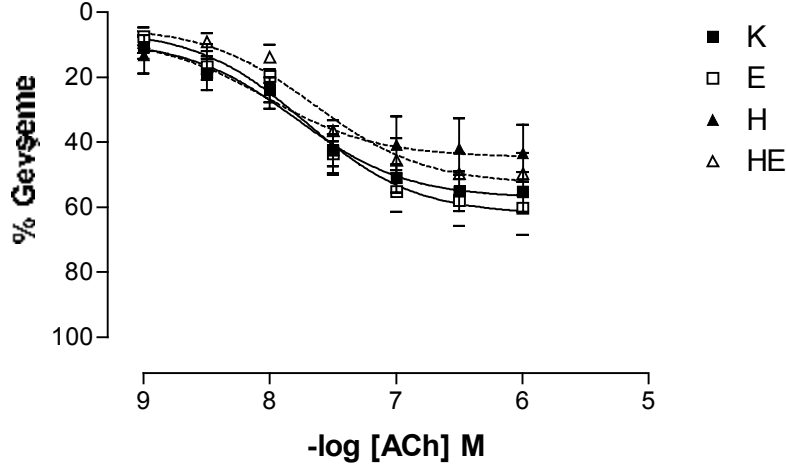
L-NAME ile inkubasyon sonrası çalışma gruplarında gözlenen ACh aracılı gevşeme yanıtları Şekil 4.6'da gösterilmiştir. L-NAME inhibisyonunun etkisi tüm gruplarda gözlemlendi. Grupların doz-yanıt eğrilerinde yapılan istatistiksel analiz sonucu aralarında önemli düzeyde ($p<0,05$) fark saptandı. H grubundaki maksimal gevşeme değerleri K grubundakilerden önemli ölçüde düşük olarak saptandı ($p<0,01$). Bunun yanında HE grubundaki cevaplar da H grubundakilerden önemli düzeyde ($p<0,05$) yüksekti (Tablo 4.1).



Şekil 4.6. L-NAME (10^{-4} M) inkubasyonu sonrasında elde edilen ACh-gevşeme cevapları. K grubundan fark, ** $p<0,01$; H grubundan fark, # $p<0,05$

4.3.7. ODQ İnhibisyonuyla Saptanan Gevşeme Cevapları

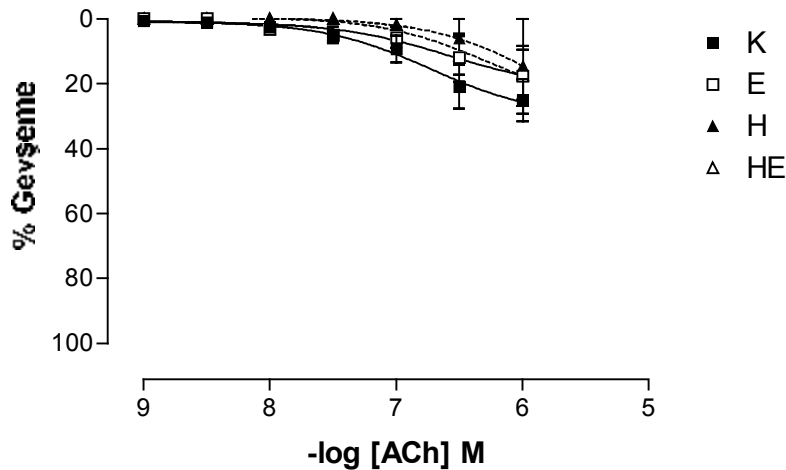
Damarların ODQ inkubasyonu sonrasında ACh'ya cevaben sergiledikleri gevşeme yanıtları Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Tüm grupların cevaplarında ODQ'nun inhibitör etkisi gözlemlendi. Grupların doz-yanıt eğrileri ve maksimal gevşeme değerleri arasında önemli bir fark saptanmadı (Tablo 4.1).



Şekil 4.7. ODQ (10^{-5} M) inhibisyonu sonrasında damar örneklerinde saptanan ACh-gevşeme cevapları.

4.3.8. L-NAME, İndometasin ve K^+ Kanalları İnhibisyonuyla Elde Edilen Damar Cevapları

NO ve prostaglandin üretimlerinin engellendiği ve damar düz kasındaki hiperpolarizasyonun önlenildiği protokoldeki damar yanıtları Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Tüm grupların gevşeme yanıtlarında belirgin azalma saptandı. Grupların doz-yanıt eğrileri ve maksimal gevşeme değerleri yönünden önemli bir fark saptanmadı (Tablo 4.1).



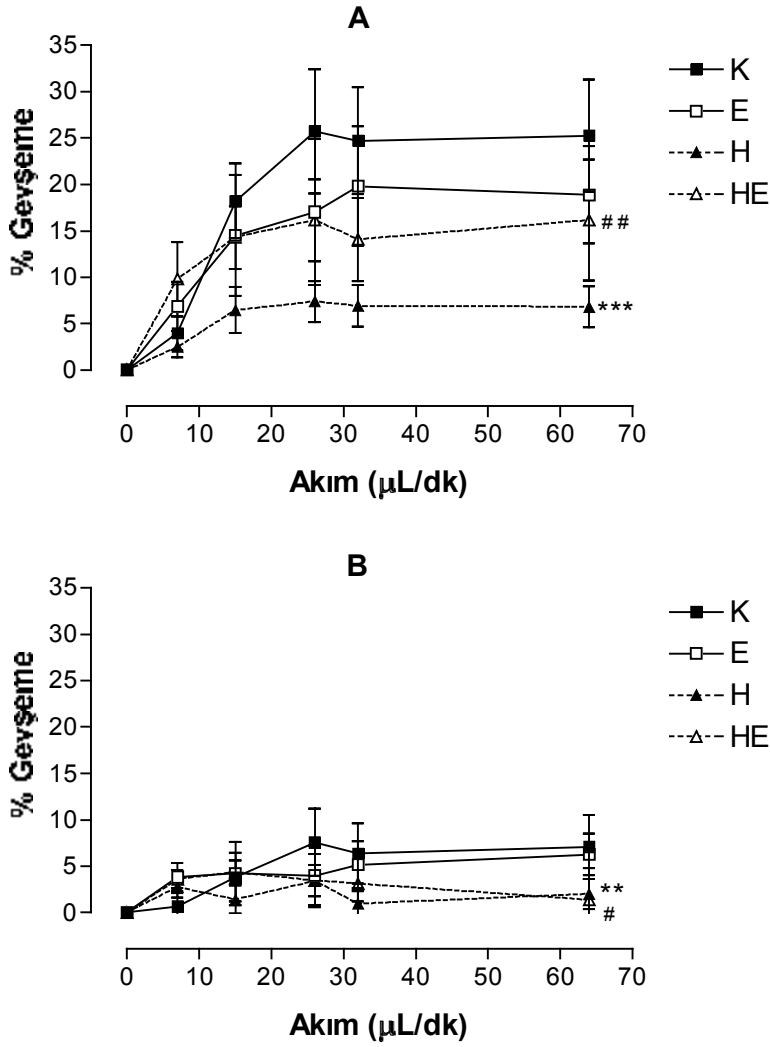
Şekil 4.8. L-NAME (10^{-4} M), indometasin (10^{-5} M), tetraetil amonyum (10^{-3} M) ve 4-aminopiridin (10^{-3} M) inhibisyonu sonrasında direnç damarlarında elde edilen ACh-gevşeme cevapları.

4.3.9. Endotelsiz Damarların Yanıtları

Endoteli hasarlanmış damarların NA'nın kümülatif dozlarına (10^{-9} – 3×10^{-6} M) gösterdiği maksimal kasılma yanıtları açısından gruplar arasında fark saptanmadı (E_{\max} (g); K $1,53 \pm 0,32$; E $1,24 \pm 0,33$; H $0,97 \pm 0,10$; HE $1,11 \pm 0,14$). Benzer şekilde artan dozdaki SNP verilmesiyle (10^{-9} – 10^{-5} M) de grupların maksimal gevşeme yanıtları farksızdı (E_{\max} (%); K $91,2 \pm 2,54$; E $93,1 \pm 0,90$; H $89,9 \pm 3,91$; HE $88,7 \pm 3,0$).

4.4. Basınç Miyografi Çalışması ve Akım Aracılı Gevşeme Cevapları

Her grupta akımla uyarılan gevşeme yanıtları bazal şartlarda ve L-NAME inkubasyonu sonrasında değerlendirildi (Şekil 4.9, A ve B). Akım aracılı gevşeme değerleri açısından, bazal şartlarda H grubundaki değerler K grubundakilere göre önemli düzeyde düşüktü ($p < 0,001$). HE grubundaki akım aracılı gevşeme yanıtları H grubuna kıyasla önemli düzeyde yükselme gösterdi ($p < 0,01$). 10^{-4} M dozundaki L-NAME akım aracılı gevşeme yanıtlarını belirgin olarak azalttı. L-NAME inkubasyonu sonrasında da benzer şekilde H grubu K'dan ($p < 0,01$), HE grubu da H'dan farklı bulundu ($p < 0,05$).

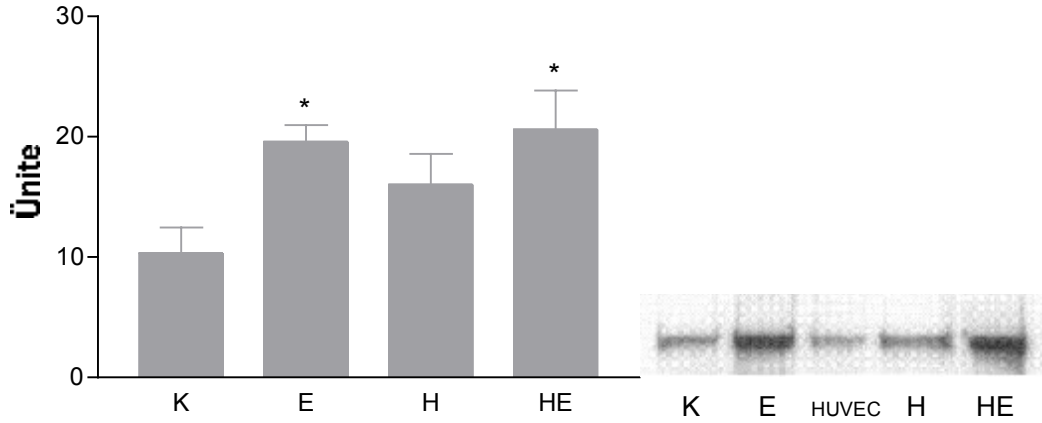


Şekil 4.9. Direnç damarlarında akım aracılığıyla uyarılan gevşeme yanıtları, A. Bazal şartlarda, B. L-NAME (10^{-4} M) inhibisyonu sonrasında. K grubundan fark, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; H grubundan fark, # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$

4.5. Western Blot Sonuçları

4.5.1. Direnç Damarlarındaki Bulgular

Eşit miktarda protein içeren damar örneklerinde GAPDH protein ekspresyonu gruplar arasında farksız olarak saptandı. eNOS protein ekspresyonu yönünden sonuçlar değerlendirildiğinde egzersiz protokolünü uygulayan her iki grupta da (E $19,4 \pm 1,39$ ve HE $20,6 \pm 3,23$) K grubuna göre ($10,3 \pm 2,15$) önemli artış bulundu ($p < 0,05$), H grubundaki sonuçlar ise K grubundakilerden istatistiksel olarak farklı değildi ($15,9 \pm 2,61$). eNOS ekspresyonu sonuçları Şekil 4.10'da sunulmuştur.



Şekil 4.10. Damarlardaki eNOS protein ekspresyonu sonuçları ve Western blot görüntüsü. (HUVEC – human umbilical vein endothelial cells, pozitif eNOS kontrolü) K grubundan fark, * $p < 0,05$

Direnç damarlarındaki nNOS sonuçları açısından gruplar arasında bir fark saptanmadı (Tablo 4.2). Yaptığımız çalışmada damarlarda iNOS proteini saptanamadı.

Tablo 4.2. Deney gruplarındaki NOS proteini ekspresyonu sonuçları (ünite).

NOS Tipi	K	E	H	HE
nNOS (damar)	$118,8 \pm 18,50$	$134,3 \pm 11,95$	$117,5 \pm 13,90$	$111,5 \pm 15,70$
nNOS (kas)	$29,5 \pm 4,60$	$28,4 \pm 2,70$	$31,4 \pm 2,50$	$29,3 \pm 3,70$
iNOS (kas)	$22,4 \pm 2,47$	$20,35 \pm 2,70$	$18,1 \pm 4,25$	$19,6 \pm 4,59$

4.5.2. Çizgili Kas Dokusundaki Bulgular

Kas örnekleri için de yapılan protein standardizasyonu sonucunda numuneler arasında GAPDH ekspresyonu yönünden fark bulunmadı. Bunun yanında eNOS proteini kas dokusunda saptanamadı.

Çizgili kas dokusundaki nNOS ekspresyonu yönünden gruplar arasında fark saptanmadı (Tablo 4.2). iNOS protein ekspresyonu da gruplar arasında farklı değildi (Tablo 4.2).

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 (21). 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. Araştırmamızda kullandığımız NOS-inhibisyonu hipertansiyon modeli ise son yıllarda sık kullanılan ve diğerlerine göre oldukça yeni bir modeldir (18).

Kan Basıncındaki Değişiklikler

Hipertansiyonların %95'lik oranını oluşturan esansiyel hipertansiyonu açıklayan önemli hipotezlerden biri de endotel disfonksiyonudur (25). Hem insan hem de hayvanlarda gösterilen bu durum temel olarak asetilkolin gibi uyarılara bağlı olarak endotelden salgılanan gevşetici maddelerin salgılanmasında yetersizlik olarak belirir (24). NOS-inhibisyonu hipertansiyonu da endotel yetmezlikle ilişkilendirilmiştir (17,18). Diğer yönden hipertansiyonun da endotel fonksiyon bozukluğu yapabileceği iddia edilmektedir (48). 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 (18,32,34,35). 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 ilk haftadan itibaren belirgin yükseliş gözlemlendi. Çalışmanın yaklaşık son 4 haftasında kan basıncı yükselmesi durdu ve yüksek olarak deney sonuna kadar devam etti. Bu seyir ve ulaşılan değerler, verilen doz göz önüne alındığında bizim önceki çalışmalarımızı da teyit eder durumdaydı (5,83).

Çalışmamızda hipertansiyon oluşturmaktan başka, gruplarımıza uyguladığımız diğer bir girişim de yüzmeye egzersizdir. 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 (1,9,38). 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 verilerimizde 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. Bu fark 4. haftada başlayıp deneyin sonuna kadar devam etti. NOS-inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde egzersizin kan basıncı üzerine etkisini inceleyen şimdikiye kadar yapılmış üç araştırma vardır. De Angelis Lobo d'Avila K ve ark. tarafından yapılan çalışmada egzersizle kan basıncında istatistiksel olarak önemli olmayan düşüş saptanırken (19), bizim yaptığımız her iki çalışmada da egzersiz belirgin düşüşe yol açtı (5, 83).

Egzersizin, hipertansiyonu düşürücü etkisinin mekanizmasında tek bir açıklama yer almamaktadır. Total katekolamin düzeyi ve sempatik aktivitede azalma (4,39,84,85), PG-E₂ düzeyi artışı (1,41), renin-anjiyotensin sistemindeki düzelmeler (4), Na atılımının artması, insulin direncinin azalması (1), barorefleks mekanizması duyarlılığının değişmesi (85,86), damarlardaki yapısal değişimler (1), kalp hızı ve periferik dirençte azalma (40,87,88), damar endotel yanıtındaki düzelmeler (10,11) bunlar arasında sayılmaktadır. Egzersizin, NOS-inhibisyonu hipertansiyonuna etkisini incelediğimiz önceki çalışmamızda (5) 4 hafta boyunca L-NAME uygulanan grupta egzersizin kalp hızı, plazma renin aktivitesi, damar duvarındaki yapısal değişikliklere etkisi saptanamazken, total NOS aktivitesinin kas dokusunda arttığını göstermiştik. Fakat önceki çalışmamızda kan basıncının en önemli belirleyicilerinden biri olan direnç damarlarının yanıtları incelenmemişti. Kasta artmış olarak saptanan NOS aktivitesinin dolaylı olarak bu damarların yanıtlarında olumlu etki yaratabileceği düşünülebilirse de, agonistlere yanıt, akım aracılı gevşeme yanıtı, hangi NOS tipinin nerede arttığı gibi sorular açık kalmıştı. Bu çalışmamızda egzersizin, NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinde olumlu etkisini açıklamak için direnç damarlarına odaklandık.

Direnç Damarlarının Yanıtlarındaki Değişiklikler

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 (89). Birçok doku gibi kas dokusunda da damar direnci büyük ölçüde çapı 10 ile 500 µm arasında değişen direnç damarlarının fonksiyonu olarak karşımıza çıkar (16). 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. Diğerisi ise damarın iki kanül arasına takılıp içinden geçen sıvının akım veya basıncının istendiği gibi düzenlenebildiği ve yanıtlarının daha fizyolojik koşullarda alınabileceği basınç miyografya tekniğidir (90,91). Basınç miyografya 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 manipülasyonu nedeniyle, basınç miyografya yanı sıra telli miyografya da tercih edilebilen bir tekniktir. Biz araştırmamızda çeşitli agonist veya antagonist ajanlara karşı direnç damarlarının yanıtlarını telli miyografya, akım aracılı gevşeme yanıtlarını ise basınç miyografya inceledik.

Endotel dokusunun hasar görmemesi için azami dikkat gösterilerek telli miyografya takılan damarların çapı yaklaşık olarak 200 - 250 μm arasında değişiyordu. İzole edilen damar segmenti, çapı ve boyuna uygun olarak *in-vivo* şartlarda 90 mmHg'ya karşılık gelecek istirahat geriminde bekletildikten sonra damara ilk olarak KCl protokolü uygulandı. Herhangi bir mediatör aracılığıyla aktive olan reseptör ve/veya post-reseptör düzeyindeki olayları işin içine katmadan doğrudan düz kasın kontraktıl elemanlarının yanıtının incelendiği bu basamakta, 80 mM KCl'ye cevapta gruplar arasında bir fark bulunamadı. İkinci aşamada konstriktör bir ajan olan noradrenalinin 10^{-9} ile 3×10^{-6} M arasındaki kümülatif konsantrasyonlarının da gruplar arasında damar kasılma yanıtlarında herhangi bir fark yaratmadığı gözlemlendi. Benzer şekilde NO vericisi olan SNP'nin neden olduğu düz kas gevşeme yanıtları da yine gruplar arasında farklı değildi. Endoteli işin içine katmadan, doğrudan düz kasa etki eden maddeler aracılığıyla alınan konsantrasyon-yanıt eğrilerinde ve maksimum kasılma-gevşeme yanıtlarında (E_{max}) gruplar arasında fark olmaması düz kasın hipertansiyon veya egzersizden bu zaman sürecinde etkilenmediğini göstermekteydi. Literatür gözden geçirildiğinde NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinde NA ve SNP yanıtlarında bir fikir birliği olmadığı göze çarpmaktadır. Bu farklı sonuçların açıklanmasında incelenen damar tipinin, inhibitör dozunun ve uygulama süresinin önemli etkisi vardır. NA'ya verilen kasılma yanıtlarında artış saptanan çalışmalarda (92,93) genellikle tedavi süresi 2 haftadan kısa tutulmuştur. Bunun yanında NA yanıtları farksız bulan çalışmalarda (94,95) genellikle daha uzun L-NAME uygulaması göze çarpmaktadır. SNP yanıtları açısından ise NOS-inhibisyonu

hipertansiyon modelinde bir çalışma haricinde (95) genellikle fark saptanamamıştır (92,96,97).

NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinde etkisini endotel üzerinden gösteren ACh-gevşeme yanıtları açısından ise literatürdeki sonuçlar, azalmış olması yönünde fikir birliğindedir (92,95,96,98,99,100). Bu hipertansiyon modelinde L-NAME verilmesiyle endotel fonksiyon bozukluğu olduğu bildirilmektedir (18,101). Bizim çalışmamızın sonuçlarına baktığımızda da 6 hafta boyunca L-NAME alan H grubunun ACh'ya verdiği gevşeme yanıtlarının kontrole göre belirgin olarak azaldığı görülmektedir. L-NAME ile egzersizin birlikte uygulandığı HE grubunda ise damarların ACh-gevşeme yanıtı normale dönmüştür. Başka hipertansiyon modellerinde (102,103,104,105) egzersizin bu düzeltici etkisi gösterilmiş olmasına rağmen NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinde ilk defa ortaya konulmuştur. Bu modelde hipertansiyon oluşumunda, NOS inhibisyonundan ziyade substrat eksikliğinin bir rolü olup olmayacağı L-arginin inkubasyonu sonucu ACh-gevşeme yanıtları ile incelendi. Banyo solusyonuna L-arginin eklenmesi tüm gruplarda gevşeme yanıtlarının bir miktar artmasına sebep olduysa da H grubundaki ACh-gevşeme yanıtında ortaya çıkan önemli azalma varlığını korumaya devam etti.

Endotel dokusunun salgıladığı çeşitli ajanlarla bazal damar tonusunun belirlendiği çok iyi bilinmektedir. Damar tonusunu azaltıcı yöndeki etkileri temel olarak üretilen salgıladığı üç madde üzerindedir: NO, prostaglandinler ve EDHF. Çeşitli maddeler (ACh, bradikinin) veya kayma gerilimi gibi mekanik uyarılar sonucu her üçünün de belli oranlarda gevşemeye katıldığı bilinmektedir (106,107,108). İncelendiği dokuya göre değişmekle birlikte arter çapı büyüdükçe bazal tonusa NO'nun katkısı ön planda iken, arter çapının küçüldüğü direnç damarlarında EDHF'nin katkısı artmaktadır (106,107,109). Fakat çizgili kas dokusu ön plana alınarak incelendiğinde, bazal tonusu sürdürmede NO'nun önemli bir ajan olduğu vurgulanmaktadır. (64,65). Ayrıca EDHF'nin bazal tonusa katkısı incelenirken yapılan NOS inhibisyonu sonucu EDHF'nin arttığı, çünkü NO'nun EDHF üzerinde düzenli bir baskılayıcı etkisi olduğu belirtilmektedir (106). Diğer yönden çizgili kas damarlarında akım aracılı gevşeme söz konusu olduğunda NO ve prostaglandinlerin ön planda olduğu, EDHF'nin ancak NO yokluğunda katkıda bulunduğu da gösterilmiştir (110).

Organ banyosunda damarların 20 dk boyunca L-NAME ile inkubasyonu sonrasında alınan gevşeme yanıtları aracılığıyla ACh'ya verilen cevapta NO'nun katkısı gösterilmeye çalışılmıştır. Hipertansif hayvanlarda saptanan gevşeme yanıtları kontrol grubuna göre önemli ölçüde baskılanmış olarak bulundu. Fakat egzersiz yaptırılan hipertansif grupta önceki deney basamaklarında olduğu gibi yanıtların normale döndüğü gözlemlendi. H grubunda görülen yanıt azalması, HE grubunda ortadan kalkmıştı. Gevşetici mediatörlerin az olması beklenmesine rağmen spontan hipertansif sıçanlarda yapılan organ banyosu çalışmalarında, L-NAME inkubasyonu ile ACh-gevşeme yanıtının önemli ölçüde azalması, yani bazal tonusu sürdürmede hala NO'nun önemli bir yer tutması bilinen bir durumdur (111,112). Bizim çalışmamızda oluşturduğumuz NOS-inhibisyonu hipertansiyonunda, L-NAME

inkubasyonu ile önemli ölçüde ACh-aracılı gevşeme etkisinin baskılanması bir çelişkiyi akla getirebilir. Daha önce de gösterilen bu durum bizim çalışmamıza özgü değildir (96). Bu deneklerde NO eksikliği olması beklenirken halen L-NAME ile yanıtların baskılanması, bu hipertansiyon modelinde sorunun yalnızca NO eksikliği olmamasından kaynaklanmaktadır. Bu durum, NO oluşumu azalmış olsa da, gevşetici mediatörler arasında göreceli olarak NO'nun gevşetici payının arttığını göstermektedir. Bunu daha iyi açıklayabilmek için NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinin fizyopatolojik süreçlerini gözden geçirmek gerekir.

NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyon modelinde fizyopatolojik süreç, NO oluşumunu engellemesi ile tonik vazodilatasyon eksikliği ile başlamaktadır. Fakat bu inhibisyon süreci bir süre devam ettirildiğinde durum, yalnızca L-arginin/NO yolağının inaktivasyonuna bağlı olmaktan çıkmaktadır (18). Bu duruma katkısı bulunduğu ileri sürülen mekanizmalar arasında renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonu (17,113,114), santral veya periferik sempatik uyarıların artışı (18,115), tuz birikimi sonucu volüm yükleme mekanizmasının harekete geçmesi (18,36), endotelin düzeyinin artması (114), kalsiyum kanallarının etkisi (18) öne sürülmektedir. Ayrıca NO'nun antiproliferatif etkilerinin ortadan kalkmasıyla gelişen kardiyak hipertrofi, böbrekte oluşan glomerüler hasar, damarlarda perivasküler fibrozis ve medial kalınlaşma, durumu yalnızca vazodilatasyon eksikliğinden öteye de götürmektedir (18,100,101,116).

NOS-inhibisyonu hipertansiyonunda yukarıda söz edilmeyen ama birçok çalışmada gösterilmiş olan diğer bir süreç de endotelden salgılanan prostaglandinlerin ve EDHF'nin de olumsuz yönde etkilenmesidir. L-NAME verilmesiyle EDHF'nin etkisinin/oluşumunun azalması yönünde az sayıda araştırma göze çarpar (117,118), prostaglandinlerle ilgili çalışmalar ise çok sayıdadır. NOS inhibisyonu dilatör prostaglandinleri azaltırken (PG-I₂), konstriktör prostaglandinleri (8-iso-PG-F₂α, TxB₂, TxA₂, PG-E₂) arttırmaktadır (101,119,120). Dilatör prostaglandinlerin üretiminden sorumlu olan siklooksijenaz-1, NOS inhibisyonu ile inhibe olup, konstriktör prostaglandinleri üreten ve indüklenen form olan siklooksijenaz-2 artmaktadır (95,121). Bu çalışmaların da ortaya koyduğu gibi NOS-inhibisyonu hipertansiyon modeli birçok mekanizma ile kan basıncını artırarak etkisini göstermektedir.

Organ banyosunda her üç dilatör mediatörün de (NO, PG'ler, EDHF) inhibitörü bulunduğunda ACh'ya verilen gevşeme yanıtının önemli ölçüde baskılandığı ve gruplar arasında bir fark olmadığı gözlemlendi. Gevşemenin tamamen ortadan kaldırılamamasının nedeni verilen inhibitörlerin konsantrasyonlarının yetmemesinin yanında, başka gevşetici maddelerin etkisinden de kaynaklanıyor olabilir. NO'nun hücre içi reseptörü olarak kabul edilen solubl guanilat siklaz enziminin inhibitörü olan ODQ'nun kullanıldığı basamakta da gevşeme yanıtları açısından gruplar arasında bir fark bulunamadı. Bu durum NO oluşuktan sonra gevşetici etkisini ortaya çıkarmada etkili olan ikincil haberci cGMP'yi içeren mekanizmaların hipertansiyonda etkilenmediğini göstermektedir. Bunun yanında 10⁻⁵ M konsantrasyonunda kullanılan ODQ'nun daha yüksek konsantrasyonları daha

büyük inhibitör etkiye sahip olabilir. Dışarıdan verilen NO'ya karşı (SNP) yanıt farkının olmaması olayın NO'nun etki edememesinden ziyade NO üretiminin/salınmasının azalması veya eksikliği yönünde olduğunu vurgulamaktadır. Endotelsiz damarların yanıtlarına bakıldığında da alınan NA-kasılma ve SNP-gevşeme yanıtlarında gruplar arasında istatistiksel fark bulunmadı.

Akım aracılı gevşeme yanıtlarının gözlemlendiği basınç miyografı, direnç damarlarının daha fizyolojik koşullarda incelenmesine olanak veren bir sistemdir. Bu düzenekten elde edilen sonuçlar büyük ölçüde telli miyografıdan elde edilen sonuçlarla uyumluydu. Direnç damarlarının akım aracılı gevşeme yanıtlarına bakıldığında 6 haftalık NOS inhibisyonu sonucu oluşan hipertansiyonda H grubunda önemli derecede baskılanma gözlemlendi.

Hipertansiyonda endotel disfonksiyonunun varlığı çok iyi bilinen bir durumdur (70). Diğer yönden sağlıklı deneklerde düzenli uygulanan egzersiz sonucu damar yanıtlarında olumlu değişikliklerin olup olmayacağı konusunda tam bir fikir birliği yoktur (69). Fakat endotel fonksiyonunun bozulduğu durumlarda (hipertansiyon, yaşlanma, sigara içme, hiperkolesterolemi, obezite, diabetes mellitus gibi) düzenli fiziksel aktivitenin önemli ölçüde iyileşme yaptığı bilinmektedir (70). Bizim egzersiz ve hipertansiyonu birlikte uyguladığımız grubun akım aracılı gevşeme yanıtlarına bakıldığında istatistiksel olarak önemli düzelme izlenmekte ve değerlerin kontrol düzeyine yaklaştığı görülmektedir.

Akım aracılı gevşeme yanıtları ortama L-NAME eklenerek incelendiğinde bu olaydaki NO'nun katkısı hakkında yorum yapmak mümkün olmaktadır. Deney gruplarının akıma yanıtları L-NAME ile büyük ölçüde baskılanmıştır. Bu da akım aracılığıyla artan kayma gerilimi ile oluşturulan yanıtta NO'nun önemli yer tuttuğunu göstermektedir. Nitekim çizgili kas damarlarının akım aracılı gevşeme yanıtlarında EDHF'nin hemen hiç katkısı olmayıp, gevşeme yanıtında öncelikli olarak NO ve prostaglandinlerin rol aldığı vurgulanmaktadır (110).

Bir mekano-transdüser gibi çalışan endotel katmanının sitoskeletal elemanları akım aracılığıyla artan kayma gerilimini algılamakta ve NO salgılanması için gerekli mekanizmaları harekete geçirmektedir (16,70). Bu durumun tekrarlaması ile NO oluşumunu arttıracak düzenlemeler gerçekleşmektedir. Egzersize bağlı olarak NOS proteinlerinin ekspresyonunun arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir. NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinde ise egzersizin etkisi ile NOS proteinlerinin nasıl değiştiğini çalışmamızın son aşamasında değerlendirdik.

NOS Enzimi Ekspresyonundaki Değişiklikler

Hem telli miyografıta, hem de basınç miyografında HE grubu damarlarında, H grubuna göre saptanan önemli düzeydeki düzelmelerin, NOS ekspresyonu artışına bağlı olabileceğini hipotezimizde belirtmiştik. Bu konuda yaptığımız ilk çalışmada da hipertansif egzersiz grubunda NOS aktivitesinin arttığını göstermiştik, fakat bu artışın ekspresyon artışına mı

yoksa post-translasyonel düzenlemeye mi bağılı olduğuna ait verileri ortaya koyamamıştık. Bu çalışmamızda hem çizgili kas hem de direnç damarlarında her üç NOS tipinin ekspresyon düzeyini incelemeyi hedefledik.

Kas kontraksiyonları sırasında artan NO miktarından hem endotel hem de çizgili kasın içindeki NOS'lar sorumludur (65). Diğer yönden egzersize bağılı olarak çizgili kasta NOS ekspresyonunun artabileceği de bilinmektedir (122,123,124). Fakat biz bu bulguyu çalışmamızda teyit edemedik. Gruplarımızın hiçbirinde çizgili kas nNOS ve iNOS düzeylerinde farklılık gözlenmedi. Bunun yanında eNOS'u çizgili kasta hiçbir grupta gösteremedik. Kas homojenatlarında saptanan eNOS'un endotel kaynaklı olması ve bizim kas numunesi alırken tüm dokuları diseksiyon mikroskopu altında damarlarından temizlememizin bu sonuçta etkisi olabilir.

Direnç damarlarının NOS ekspresyonu sonuçları incelendiğinde ise indüklenebilir form olan iNOS saptanamazken, nNOS düzeyleri açısından gruplar arasında fark yoktu. Literatür incelendiğinde de hipertansiyon veya egzersizden etkilenen NOS tipinin eNOS olduğu izlenmektedir (16,69,70). Egzersiz uygulanan her iki grubumuzda da eNOS ekspresyonu K grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulundu. Miyograf çalışmalarından elde edilen damar yanıtlarındaki düzelmeye çok önemli destek sağlayan bu bulgu, NOS-inhibisyonu hipertansiyon modelinde egzersizin etkisi açısından, daha önce gösterilmemiştir. Birçok çalışmada egzersizle artan kayma gerilimi sonucu eNOS'un upregülasyona uğradığı ve oluşan NO miktarını arttırdığı gösterilmiştir (16,69). Fakat egzersiz uzun süre devam ettirilirse NOS düzeyinin tekrar normale geldiği ve bunda da vasküler yeniden yapılanma ile damar çapının ve sayısının artması ile fiziksel aktiviteye bağılı kayma gerilimi etkisinin ortadan kalkmasının etkili olduğu bildirilmektedir (70).

Sonuç olarak, NOS inhibisyonuna bağılı hipertansiyon modelinde uygulanan düzenli fiziksel aktiviteyle ortaya çıkan kan basıncı düşüşü bu çalışmamızda tekrar ortaya konulmuştur. Bu bulgunun mekanizmasını açıklamaya yönelik olarak direnç damarlarının yanıtları incelendiğinde hipertansif grupta hem kimyasal hem fiziksel uyarılara karşı, bozulmuş olan gevşeme yanıtlarının egzersizle düzeldiği saptanmıştır. Direnç damarlarında artan eNOS ekspresyonunun, bu düzelmeye önemli rolü olabileceği gösterilmiştir.

SONUÇLAR

NOS inhibisyonu hipertansiyon modelinde 6 haftalık yüzme egzersizi belirgin kan basıncı düşüşüne neden oldu. İncelenen direnç arterlerinde endotelial disfonksiyon göstergesi olarak ACh ile uyarılan gevşeme yanıtları ve akım aracılı gevşeme cevapları hipertansiyonda bozulmuş olarak bulundu. Egzersiz her iki parametre üzerine endotelial disfonksiyonu düzeltme yönünde etki gösterdi. Endotelial NOS enziminin ekspresyonundaki artışın da bu etkiye katkısı vardır.

KAYNAKLAR

1. Dunbar CC: The antihypertensive effects of exercise training; NY State J Med, Vol 92, No 6: 250-255, 1992.
2. Fregly MJ: Effect of an exercise regimen on development of hypertension in rats; J Appl Physiol, 56(2): 381-387, 1984.
3. Tipton CM, Matthes RD, Callahan A, Tchong TK, Lias LT: The role of chronic exercise on resting blood pressures of normotensive and hypertensive rats; Medicine and Science in Sports, Vol 9, No 3: 168-177, 1977.
4. Tipton CM: Exercise, training and hypertension: An update; Exerc Sport Sci Rev, 19: 447-505, 1991.
5. 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, 87(2):134-40, 2002.
6. Hoffman P, Frieberg P, Ely D, Thoren P: Effect of spontaneous running on blood pressure, heart rate and cardiac dimensions in developing and established spontaneous hypertension in rats; Acta Physiol Scand, 129(4): 535-542, 1987.
7. Marcus KD, Tipton CM: Exercise training and its effects with renal hypertensive rats; J Appl Physiol, 59(5): 1410-1415, 1985.
8. Tipton CM, Sebastian LA, Overton JM, Woodman CR, Williams SB: Chronic exercise and its hemodynamic influences on resting blood pressure of hypertensive rats; J Appl Physiol, 71(6): 2206-2210, 1991.
9. Arakawa K: Hypertension and exercise; Clin and Exper Hypertension; 15(6): 1171-1179, 1993.
10. Grasi G, Seravalle G, Calhoun D, Bolla GB, Mancina G: Physical exercise in essential hypertension; CHEST, 101(5): 312S-314S, 1992.
11. Sessa WC, Pritchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH: Exercise induced shear stress upregulates endothelial cell nitric oxide synthase gene expression, in Biology of Nitric Oxide-3 Physiological and clinical aspects, Portland Press, pp.1-3, 1994.

12. Shen W, Zhang X, Zhao G, Wolin MS, Sessa W, Hintze TH: Nitric oxide production and NO synthase gene expression contribute to vascular regulation during exercise; *Med Sci Sports Exerc*; Vol 27, No 8: 1125-1134, 1995.
13. Chen HI, Chiang IP: Chronic exercise decreases adrenergic agonist induced vasoconstriction in spontaneously hypertensive rats; *Am J Physiol*, 271: H977-H983, 1996.
14. Jonsdottir IH, Jungersten L, Johansson C, Wennmalm, Thoren P, Hoffmann P: Increase in nitric oxide formation after chronic voluntary exercise in spontaneously hypertensive rats; *Acta Physiol Scand*, 162: 149-153, 1998.
15. Yen MH, Yang JH, Shey JR, Lee YM, An Ding Y: Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation in spontaneously hypertensive rats; *Life Sciences*, Vol 57, No 24: 2205-2213, 1995.
16. Green DJ, O'Driscoll G, Blanksby A, Taylo RR: Control of skeletal muscle blood flow during dynamic exercise; *Sports Med*, 21(2): 119-146, 1996.
17. Ribeiro MO, Antunes A, de Nucci G, Lovisolo SM, Zatz R: Chronic inhibition of nitric oxide synthesis-A new model of arterial hypertension; *Hypertension*, 20: 298-303, 1992.
18. Zatz R, Baylis C: Chronic nitric oxide inhibition model six years on; *Hypertension*, 32(6): 958-964, 1998.
19. d'Avila KDL, Gadonski G, Fang J, Dall'Ago P, Albuquerque VL, Piexoto LRA, Fernandes TG, Irigoyen MC: Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats; *Hypertension*; Vol 34, Part 2:768-772, 1999.
20. Kaplan NM: Primary hypertension: Pathogenesis, in *Clinical Hypertension*; Williams & Wilkins, 7th edition, pp. 41-99, 1998.
21. Kornitzer M, Dramaix M, De Backer Guy: Epidemiology of risk factors for hypertension-Implication for prevention and therapy; *Drugs*, 57(5): 695-712, 1999.
22. Ross J Jr: Cardiovascular System: Heart failure, hypertrophy, and other abnormal cardiovascular states, in *Best and Taylor's Physiological Basis of Medical Practice*, Williams & Wilkins, 12th edition, pp.315-318, 1990.
23. Cooke JP, Dzau V: Nitric oxide synthase: Role in the genesis of vascular disease; *Annu Rev Med*, 48: 489-509, 1997.

24. DeArtinano AA, Gonzalez LM: Endothelial dysfunction and hypertensive vasoconstriction; *Pharmacological Research*, Vol 40, No 2: 113-124, 1999.
25. Kaplan NM: *Clinical Hypertension*, Williams & Wilkins, 7th edition, Section 9-12, pp. 281-363, 1998.
26. Kaplan NM: Treatment of Hypertension: Drug therapy, in *Clinical Hypertension*; William & Wilkins, 7th edition, pp. 181-265, 1998.
27. Kulics JM, Collins HL, DiCarlo SE: Postexercise hypotension is mediated by reductions in sympathetic nerve activity; *Am J Physiol*, 276: H27-H32, 1999.
28. Fujita K, Matsumura Y, Kita S, Miyazaki Y, Hisaki K, Takaoka M, Morimoto S: Role of endothelin-1 and the ET_A receptor in the maintenance of deoxycorticosterone acetate-salt-induced hypertension; *Br J Pharmacol*, 114: 925-931, 1995.
29. Volpe M, Sosa E, Müller FB, Camargo MJF, Glorioso N, Laragh JH, Maack T, Atlas SA: Differing hemodynamic responses to atrial natriuretic factor in two models of hypertension, *Am J Physiol*, 250: H871-H878, 1986.
30. Yu H, Rkugi H, Higaki J, Morishita R, Mikami Y, Ogihara T: The role of activated vascular angiotensin II generation in vascular hypertrophy in one-kidney, one-clip hypertensive rats; *J Hypertens*, 11: 1347-1355, 1993.
31. Chandler M, DiCarlo SD: Acute exercise and gender alter cardiac autonomic tonus differently in hypertensive and normotensive rats; *Am J Physiol*, 274: R510-R516, 1998.
32. Pollock DM: Chronic studies on the interaction between nitric oxide and endothelin in cardiovascular and renal function; *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 26: 258-261, 1999.
33. Kone BC, Baylis C: Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney; *Am J Physiol*, 272: F561-F578, 1997.
34. Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T, Palmer RMJ, Moncada S: Nitric oxide synthase inhibitors cause sustained, but reversible, hypertension and hindquarters vasoconstriction in Brattleboro rats; *Eur J Pharmacol*, 213: 449-451, 1992.
35. Sakuma I, Shundo H, Togashi H, Yoshioka M, Saito H, Nakamura T, Fujioka Y, Kitabatake A, Levi R: A chronic model of hypertension with

increased sympathetic drive in the rat by inhibition of nitric oxide synthase, in *Biology of Nitric Oxide-3 Physiological and clinical aspects*, Portland Press, pp.245-247, 1994.

36. Navarro J, Sanchez A, Saiz J, Ruilope LM, Estan JG, Romero C, Moncada S, Lahera V: Hormonal, renal, and metabolic alterations during hypertension induced by chronic inhibition of NO in rats; *Am J Physiol*, 267: R1516-R1521, 1994.
37. Miall WE, Oldham PD: Factors influencing arterial blood pressure in the general population; *Clin Sci*, 17: 409-444, 1958.
38. Jennings GL: Exercise and blood pressure: walk, run or swim?; *J Hypertens*, 15: 567-569, 1997.
39. Jennings GL, Nelson L, Korner P, Esler M: The place of exercise in the long term treatment of hypertension; *Nephron*, 47 (Sppl 1): 30-33, 1987.
40. Nelson L, Jennings GL, Esler MD, Korner PI: Effects of changing levels of physical activity on blood pressure and haemodynamics in essential hypertension; *Lancet*, 2(8505):473-476, 1986.
41. Kiyonaga A, Arakawa K, Tanaka H, Shindo M: Blood pressure and hormonal responses to aerobic exercise; *Hypertension*, Vol 7, No 1:125-131, 1985.
42. 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*, 52(6): 1608-1613, 1982.
43. Kaplan NM: Primary hypertension: Natural history, Special populations, and evaluation, in *Clinical Hypertension*; Williams & Wilkins, 7th edition, pp. 101-132, 1998.
44. Stuehr DJ, Griffith OW: Mammalian nitric oxide synthases; *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 65: 287-346, 1992.
45. Gruetter CA, Barry BK, McNamara DB, Gruetter DY, Kadowitz PJ, Ignarro LJ: Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosoamine; *J Cyclic Nucleotide Protein Phosphoryl Res*, 5: 211-224, 1979.
46. Ignarro LJ: Nitric oxide-mediated vasorelaxation; *Thrombosis and Haemostasis*, 70(1): 148-151, 1993.

47. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology; *Pharmacol Rev*, Vol 43, No 2:109-142, 1991.
48. Marin J, Martinez AR: Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions; *Pharmacol Ther*, Vol 75, No 2: 111-134, 1997.
49. Hobbs AJ, Ignarro LJ: Nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system; *Methods in Enzymology*, Vol 269: 134-149, 1996.
50. Lloyd-Jones DM, Bloch KD: The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis; *Annu Rev Med*, 47: 365-375, 1996.
51. Förstermann U, Gath I, Schwarz P, Closs EI, Kleinert H: Isoforms of nitric oxide synthase-Properties, cellular distribution and expressional control; *Biochemical Pharmacology*, Vol 50, No 9, pp. 1321-1332, 1995.
52. Mizutani T, Syon AJ: Clinical applications of nitric oxide; *CHEST*, 110: 506-524, 1996.
53. Moncada S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway; *The New England Journal of Medicine*, Dec 30, 2002-2012,1993.
54. Bode-Böger SM, Böger RH, Gerecke U, Frölich JC: Effects of chronic oral treatment with L-arginine N^G-nitro-L-arginine methyl ester on blood pressure and nitric oxide formation in rats, in *Biology of Nitric Oxide-3 Physiological and clinical aspects*, Portland Press, pp.167-171, 1994.
55. Wascher TC, Posch K, Wallner S, Hermetter A, Kostner GM, Graier W: Vascular effects of L-arginine: Anything beyond a substrate for the NO-Synthase?; *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 234: 35-38, 1997.
56. Chang CI, Liao JC, Kuo L: Arginase modulates nitric oxide production in activated macrophages; *Am J Physiol*, 274: H342-H348, 1998.
57. Bruhwiler J, Chleide E, Liegeois JF, Carreer F: Nitric oxide: A new messenger in the brain; *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, Vol 17: 373-384, 1993.
58. Guyton AC, Hall JE: *Textbook of Medical Physiology*; Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., pp. 877-882, 1996.
59. Rubbo H, Darley-Usmar V, Freeman BA: Forum on nitric oxide: Nitric oxide regulation of tissue free radical injury; *Chem Res Toxicol*, Vol 9(5), 809-820, 1996.

60. Morita K, Sherman MP, Buckberg GD, Ihnken K, Matheis G, Young HH, Ignarro L: Role of the L-arginine-nitric oxide pathway: The nitric oxide paradox; *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, Vol 110, No 4(2), 1201-1211, 1995.
61. Schmidt HW, Hofmann H, Schindler U, Shutenko ZS, Cunningham DD, Feelisch M: No ·NO from NO synthase; *Proc Natl Acad Sci*, Vol 93, pp. 14492-14497, 1996.
62. Ignarro LJ: Nitric oxide: a unique endogenous signaling molecule in vascular biology; *Biosci Rep*, 19(2): 51-71, 1999.
63. Bhagat K, Vallance P: Nitric oxide 9 years on; *J R Soc Med*, 89(12): 667-73, 1996.
64. Delp MD, Laughlin MH: Regulation of skeletal muscle perfusion during exercise; *Acta Physiol Scand*, 162(3): 411-9, 1998.
65. Clifford PS, Hellsten Y: Vasodilatory mechanisms in contracting skeletal muscle; *J Appl Physiol*, 97(1): 393-403, 2004.
66. Delp MD, O'Leary DS: Integrative control of the skeletal muscle microcirculation in the maintenance of arterial pressure during exercise; *J Appl Physiol*, 97(3): 1112-8, 2004.
67. Joyner MJ, Dietz NM: Sympathetic vasodilation in human muscle; *Acta Physiol Scand*, 177(3): 329-36, 2003.
68. Rowell LB: Ideas about control of skeletal and cardiac muscle blood flow (1876-2003): cycles of revision and new vision; *J Appl Physiol*, 97(1): 384-92, 2004.
69. Green DJ, Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R: Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans; *J Physiol*, 561(Pt 1): 1-25, 2004.
70. Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R, Green D: Exercise and the nitric oxide vasodilator system; *Sports Med*, 33(14): 1013-35, 2003.
71. Davidge ST: Prostaglandin H synthase and vascular function; *Circ Res*, 89(8): 650-60, 2001.
72. Karamouzis M, Karamouzis I, Vamvakoudis E, Ampatzidis G, Christoulas K, Angelopoulou N, Mandroukas K: The response of muscle interstitial prostaglandin E₂ (PGE₂), prostacyclin I₂ (PGI₂) and thromboxane A₂ (TXA₂) levels during incremental dynamic exercise in humans determined by in vivo microdialysis; *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 64(4-5): 259-63, 2001.

73. Wilson JR, Kapoor SC: Contribution of prostaglandins to exercise-induced vasodilation in humans; *Am J Physiol*, 265(1 Pt 2): H171-5, 1993.
74. Busse R, Edwards G, Feletou M, Fleming I, Vanhoutte PM, Weston AH: EDHF: bringing the concepts together; *Trends Pharmacol Sci*, 23(8): 374-80, 2002.
75. Langberg H, Bjorn C, Boushel R, Hellsten Y, Kjaer M: Exercise-induced increase in interstitial bradykinin and adenosine concentrations in skeletal muscle and peritendinous tissue in humans; *J Physiol*, 542(Pt 3): 977-83, 2002.
76. Fisslthaler B, Popp R, Kiss L, Potente M, Harder DR, Fleming I, Busse R: Cytochrome P450 2C is an EDHF synthase in coronary arteries; *Nature*, 401(6752): 493-7, 1999.
77. Hillig T, Krstrup P, Fleming I, Osada T, Saltin B, Hellsten Y: Cytochrome P450 2C9 plays an important role in the regulation of exercise-induced skeletal muscle blood flow and oxygen uptake in humans; *J Physiol*, 546(Pt 1): 307-14, 2003.
78. Radegran G, Saltin B: Nitric oxide in the regulation of vasomotor tone in human skeletal muscle; *Am J Physiol*, 276(6 Pt 2): H1951-60, 1999.
79. McAllister RM: Endothelium-dependent vasodilation in different rat hindlimb skeletal muscles; *J Appl Physiol*, 94(5): 1777-84, 2003.
80. Reid MB: Role of nitric oxide in skeletal muscle: synthesis, distribution and functional importance; *Acta Physiol Scand*, 162(3): 401-409, 1998.
81. Kobzik L, Reid MB, Bredt DS, Stamler JS: Nitric oxide in skeletal muscle; *Nature*, 372(6506): 546-8, 1994.
82. Williams G, Brown T, Becker L, Prager M, Giroir BP: Cytokine-induced expression of nitric oxide synthase in C2C12 skeletal muscle myocytes; *Am J Physiol*, 267(4 Pt 2): R1020-5, 1994.
83. Kuru O, Senturk UK, Gulkesen H, Demir N, Gunduz F: Physical training increases renal injury in rats with chronic NOS inhibition; *Ren Fail*, 27(4): 459-63, 2005.
84. Chen Y, Chandler MP, DiCarlo SE : Daily exercise and gender influence postexercise cardiac autonomic responses in hypertensive rats; *Am J Physiol*, 272(3 Pt 2): H1412-8, 1997.
85. Chandler MP, DiCarlo SE: Sinoaortic denervation prevents postexercise reductions in arterial pressure and cardiac sympathetic tonus; *Am J Physiol*, 273(6 Pt 2): H2738-45, 1997.

86. Silva GJ, Brum PC, Negrao CE, Krieger EM: Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats; *Hypertension*, 30(3 Pt 2): 714-9, 1997.
87. 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*, 273(6 Pt 2): H2627-31, 1997.
88. Urata H, Tanabe Y, Kiyonaga A, Ikeda M, Tanaka H, Shindo M, Arakawa K: Antihypertensive and volume-depleting effects of mild exercise on essential hypertension; *Hypertension*, 9(3): 245-52, 1987.
89. Thomas GD, Segal SS: Neural control of muscle blood flow during exercise; *J Appl Physiol*, 97(2): 731-8, 2004.
90. Falloon BJ, Stephens N, Tulip JR, Heagerty AM: Comparison of small artery sensitivity and morphology in pressurized and wire-mounted preparations; *Am J Physiol*, 268(2 Pt 2): H670-8, 1995.
91. Schiffrin EL, Hayoz D: How to assess vascular remodelling in small and medium-sized muscular arteries in humans; *J Hypertens*, 15(6): 571-84, 1997.
92. dos Santos L, Xavier FE, Vassallo DV, Rossoni LV: Cyclooxygenase pathway is involved in the vascular reactivity and inhibition of the Na⁺, K⁺-ATPase activity in the tail artery from L-NAME-treated rats; *Life Sci*, 74(5): 613-27, 2003.
93. Bratz IN, Kanagy NL: Nitric oxide synthase-inhibition hypertension is associated with altered endothelial cyclooxygenase function; *Am J Physiol*, 287(6): H2394-401, 2004.
94. de Campos Grifoni S, Bendhack LM: Functional study of the [Ca²⁺]_i signaling pathway in aortas of L-NAME-hypertensive rats; *Pharmacology*, 70(3): 160-8, 2004.
95. De Gennaro Colonna V, Fioretti S, Rigamonti A, Bonomo S, Manfredi B, Muller EE, Berti F, Rossoni G: Angiotensin II type 1 receptor antagonism improves endothelial vasodilator function in L-NAME-induced hypertensive rats by a kinin-dependent mechanism; *J Hypertens*, 24(1): 95-102, 2006.
96. Holecyova A, Torok J, Bernatova I, Pechanova O: Restriction of nitric oxide rather than elevated blood pressure is responsible for alterations of vascular responses in nitric oxide-deficient hypertension; *Physiol Res*, 45(4): 317-21, 1996.
97. De Gennaro Colonna V, Rossoni G, Rigamonti A, Bonomo S, Manfredi B, Berti F, Muller E: Enalapril and quinapril improve endothelial vasodilator

function and aortic eNOS gene expression in L-NAME-treated rats; *Eur J Pharmacol*, 450(1): 61-6, 2002.

98. Torok J, Gerova M: Vascular responses after long-term inhibition of nitric oxide synthesis in newborn dogs; *Physiol Res*, 45(4): 323-8, 1996.
99. Torok J: Histamine-induced relaxation in pulmonary artery of normotensive and hypertensive rats: relative contribution of prostanoids, nitric oxide and hyperpolarization; *Physiol Res*, 49(1): 107-14, 2000.
100. 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*, 33(4): 554-66, 1999.
101. Duarte J, Jimenez R, O'Valle F, Galisteo M, Perez-Palencia R, Vargas F, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Tamargo J: Protective effects of the flavonoid quercetin in chronic nitric oxide deficient rats; *J Hypertens*, 20(9): 1843-54, 2002.
102. Yen MH, Yang JH, Sheu JR, Lee YM, Ding YA: Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation in spontaneously hypertensive rats; *Life Sci*. 57(24): 2205-13, 1995.
103. Sallinen K, Arvola P, Wuorela H, Ruskoaho H, Vapaatalo H, Porsti I: High calcium diet reduces blood pressure in exercised and nonexercised hypertensive rats; *Am J Hypertens*, 9(2): 144-56, 1996.
104. Varin R, Mulder P, Richard V, Tamion F, Devaux C, Henry JP, Lallemand F, Lerebours G, Thuillez C: Exercise improves flow-mediated vasodilatation of skeletal muscle arteries in rats with chronic heart failure. Role of nitric oxide, prostanoids, and oxidant stress; *Circulation*, 99(22): 2951-7, 1999.
105. Wood JG, Johnson JS, Mattioli LF, Gonzalez NC: Systemic hypoxia increases leukocyte emigration and vascular permeability in conscious rats; *J Appl Physiol*, 89(4): 1561-8, 2000.
106. Nishikawa Y, Stepp DW, Chilian WM: In vivo location and mechanism of EDHF-mediated vasodilation in canine coronary microcirculation; *Am J Physiol*, 277(3 Pt 2): H1252-9, 1999.
107. Brandes RP, Schmitz-Winnenthal FH, Feletou M, Godecke A, Huang PL, Vanhoutte PM, Fleming I, Busse R: An endothelium-derived hyperpolarizing factor distinct from NO and prostacyclin is a major endothelium-dependent vasodilator in resistance vessels of wild-type and endothelial NO synthase knockout mice; *Proc Natl Acad Sci USA*, 97(17): 9747-52, 2000.

108. Nishikawa Y, Stepp DW, Chilian WM: Nitric oxide exerts feedback inhibition on EDHF-induced coronary arteriolar dilation in vivo; *Am J Physiol*, 279(2): H459-65, 2000.
109. Woodman OL, Wongsawatkul O, Sobey CG: Contribution of nitric oxide, cyclic GMP and K⁺ channels to acetylcholine-induced dilatation of rat conduit and resistance arteries; *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 27(1-2): 34-40, 2000.
110. Huang A, Sun D, Carroll MA, Jiang H, Smith CJ, Connetta JA, Falck JR, Shesely EG, Koller A, Kaley G: EDHF mediates flow-induced dilation in skeletal muscle arterioles of female eNOS-KO mice; *Am J Physiol*, 280(6): H2462-9, 2001.
111. Wu CC, Chen SJ, Yen MH: Loss of acetylcholine-induced relaxation by M3-receptor activation in mesenteric arteries of spontaneously hypertensive rats; *J Cardiovasc Pharmacol*, 30(2): 245-52, 1997.
112. Alvarez de Sotomayor M, Perez-Guerrero C, Herrera MD, Marhuenda E: Effects of chronic treatment with simvastatin on endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats; *J Hypertens*, 17(6): 769-76, 1999.
113. Usui M, Egashira K, Kitamoto S, Koyanagi M, Katoh M, Kataoka C, Shimokawa H, Takeshita A: Pathogenic role of oxidative stress in vascular angiotensin-converting enzyme activation in long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats; *Hypertension*, 34(4 Pt 1): 546-51, 1999.
114. Lee J, Kim S, Oh Y, Ryu SY, Kim SW: Upregulation of vascular renin-angiotensin and endothelin systems in rats inhibited of nitric oxide synthesis; *Pharmacol Res*, 46(5): 383-7, 2002.
115. Cunha RS, Cabral AM, Vasquez EC: Evidence that the autonomic nervous system plays a major role in the L-NAME-induced hypertension in conscious rats; *Am J Hypertens*, 6(9): 806-9, 1993.
116. Ito A, Egashira K, Kadokami T, Fukumoto Y, Takayanagi T, Nakaike R, Kuga T, Sueishi K, Shimokawa H, Takeshita A: Chronic inhibition of endothelium-derived nitric oxide synthesis causes coronary microvascular structural changes and hyperreactivity to serotonin in pigs; *Circulation*, 92(9): 2636-44, 1995.
117. Peterson DA, Peterson DC, Archer S, Weir EK: The non specificity of specific nitric oxide synthase inhibitors; *Biochem Biophys Res Commun*, 187(2): 797-801, 1992.
118. Gambone LM, Murray PA, Flavahan NA: Synergistic interaction between endothelium-derived NO and prostacyclin in pulmonary artery: potential role for K⁺ATP channels; *Br J Pharmacol*, 121(2): 271-9, 1997.

119. Marcelin-Jimenez G, Escalante B: Functional and cellular interactions between nitric oxide and prostacyclin; *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 129(4): 349-59, 2001.
120. Alanko J, Jolma P, Koobi P, Riutta A, Kalliovalkama J, Tolvanen JP, Porsti I: Prostacyclin and thromboxane A2 production in nitric oxide-deficient hypertension in vivo. Effects of high calcium diet and angiotensin receptor blockade; *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 69(5): 345-50, 2003.
121. Tomida T, Numaguchi Y, Nishimoto Y, Tsuzuki M, Hayashi Y, Imai H, Matsui H, Okumura K: Inhibition of COX-2 prevents hypertension and proteinuria associated with a decrease of 8-iso-PGF2alpha formation in L-NAME-treated rats; *J Hypertens*, 21(3):601-9, 2003.
122. Roberts CK, Barnard RJ, Jasman A, Balon TW: Acute exercise increases nitric oxide synthase activity in skeletal muscle; *Am J Physiol*, 277(2 Pt 1): E390-4, 1999.
123. Tatchum-Talom R, Schulz R, McNeill JR, Khadour FH: Upregulation of neuronal nitric oxide synthase in skeletal muscle by swim training; *Am J Physiol*, 279(4): H1757-66, 2000.
124. Vassilakopoulos T, Deckman G, Kebbewar M, Rallis G, Harfouche R, Hussain SN: Regulation of nitric oxide production in limb and ventilatory muscles during chronic exercise training; *Am J Physiol*, 284(3): L452-7, 2003.

ÖZGEÇMİŞ

28.06.1975 tarihinde Bulgaristan'ın Razgrad şehrinde dünyaya gelen Oktay KURU, ilk öğrenimini ve orta öğreniminin bir kısmını Bulgaristan'da tamamladı. Ailesiyle birlikte 1989 yılında Türkiye'ye göç ederek 1990 yılında Eskişehir Atatürk Ortaokulunda orta öğrenimini bitirdi. Eskişehir Atatürk Lisesinden 1993 yılında mezun oldu ve aynı yıl İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü'nde yüksek öğrenimine başladı. 1997 yılında lisans diploması almaya hak kazanarak Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı ve 2000 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. Aynı yıl, 20 Aralık 2006'ya kadar devam eden Fizyoloji doktora programına başladı. Yabancı dili İngilizce'dir.

EKLER