



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SPONTAN HİPERTANSİF SIÇANLARDA EGZERSİZ VE
ONU İZLEYEN EGZERSİZİ BIRAKMA (DETRAINING)
SÜRECİNİN NİTRİK OKSİT VE KARBON MONOKSİT
DÜZEYLERİ VE SENTEZLERİNDE ROL OYNAYAN
GENLERİN EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

Emine KILIÇ TOPRAK

**Şubat 2015
DENİZLİ**

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SPONTAN HİPERTANSİF SIÇANLARDA EGZERSİZ VE ONU
İZLEYEN EGZERSİZİ BIRAKMA (DETRAINING) SÜRECİNİN
NİTRİK OKSİT VE KARBON MONOKSİT DÜZEYLERİ VE
SENTEZLERİNDE ROL OYNAYAN GENLERİN
EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

Emine KILIÇ TOPRAK

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Melek BOR-KÜÇÜKATAY

Denizli, 2015

DOKTORA TEZİ ONAY FORMU

Emine KILIÇ TOPRAK tarafından Prof. Dr. Melek BOR-KÜÇÜKATAY yönetiminde hazırlanan “**Spontan hipertansif sıçanlarda egzersiz ve onu izleyen egzersizi bırakma (detraining) sürecinin nitrik oksit ve karbon monoksit düzeyleri ve sentezlerinde rol oynayan genlerin ekspresyonları üzerine etkisinin belirlenmesi**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Aysel AĞAR
Akdeniz Üniversitesi



Danışman: Prof. Dr. Melek BOR-KÜÇÜKATAY
Pamukkale Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN
Erciyes Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Günfer TURGUT
Pamukkale Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Vildan CANER
Pamukkale Üniversitesi



Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
3.3/2015 tarih ve 6-8... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Melek BOR-KÜÇÜKATAY
Müdür



Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Öğrenci Adı Soyadı : Emine KILIÇ TOPRAK

İmza :

ÖZET

SPONTAN HİPERTANSİF SIÇANLARDA EGZERSİZ VE ONU İZLEYEN EGZERSİZİ BIRAKMA (DETRAINING) SÜRECİNİN NİTRİK OKSİT VE KARBON MONOKSİT DÜZEYLERİ VE SENTEZLERİNDE ROL OYNAYAN GENLERİN EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Kılıç Toprak, Emine
Doktora Tezi, Fizyoloji AD
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Melek BOR-KÜÇÜKATAY

Şubat 2015, 107 Sayfa

Çalışma kapsamında, 8 haftalık sağlıklı ve spontan hipertansif sıçanlara (SHR) 10 hafta boyunca yaptırılan orta şiddetli yüzme egzersizi ve bunu takiben uygulanan 5 (detraining) ve 10 haftalık (geç detraining) egzersizi bırakma periyodlarının sistolik kan basıncı (SKB) üzerine olası etkileri incelenmiştir. Ek olarak, egzersiz ve detraining süreçlerinin SKB üzerine etkilerinde damar endotelinin rolünün açıklanabilmesi için kan karboksihemoglobin (COHb) indeksi ve serum nitrik oksit metabolitleri (NOx) düzeyleri, nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO) sentezlerinde rol oynayan genlerin ekspresyonları incelenmiştir. Sıçanlar egzersiz, detraining 5 hafta, detraining 10 hafta olmak üzere gruplara ayrılmış, sedanter sıçanlar da aynı periyodlara karşılık gelecek şekilde Zaman 1-2-3 olarak gruplandırılmıştır. Egzersiz grupları 60dk, 5 gün/hafta, 10 hafta yüzdürülmüştür. Detraining sıçanların bu tarihten sonra 5 ve 10 hafta süresince kafeslerinde yaşamalarına izin verilmiştir. NOx düzeyi ticari bir kit, COHb indeksi kan gazı cihazı ile, eNOS, iNOS, HO-1 and HO-2 gen ekspresyonları RT-PCR ve protein ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemlerle ölçülmüştür. Egzersiz SKB'de azalmaya, COHb indeksi ve NOx düzeylerinde artışa sebep olmuştur. SHR'lerin aort eNOS ve HO-1 ekspresyonları istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek, iNOS ve HO-2 ekspresyonları ise düşük bulunmuştur. Egzersiz SHR'lerin aortlarında HO-1 ve HO-2 ekspresyonlarını arttırmıştır. SHR'lerde 5 haftalık detraining, egzersizle artmış olan aort HO-1 ekspresyonunda azalma, 10 haftalık detraining ise egzersizle azalmış olan gastrocnemius kası direnç arteri HO-2 ekspresyonunda artış oluşturmuştur. COHb ve NOx düzeyleri 5 haftalık detraining ile azalmıştır. Sağlıklı sıçanlarda egzersize cevaben ortaya çıkan SKB azalması detraining sürecinde yapılan ilk ölçümden itibaren ortadan kalkmıştır. Hipertansiflerde ise egzersizle sağlanan SKB azalmasının geri dönmesi için egzersiz süresine eşit bir detraining süreci (10 hafta) geçmesi gerekmiştir. Çalışmamızın sonuçları egzersizin SKB üzerindeki bahsedilen olumlu etkilerinin ortaya çıkmasında NO ve CO'nun - kısmen de olsa- rol oynadığını göstermektedir. Hem sağlıklı, hem de genetik olarak hipertansiyona yatkın bireylere orta şiddette aerobik egzersiz yapmaları ve kısa süreli molalar dışında egzersizi bırakmamaları önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Hipertansiyon, Egzersiz, Detraining, Nitrik Oksit, Karbon Monoksit

Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2012ARŞ002 ve 2013SBE002).

ABSTRACT**EFFECTS OF EXERCISE TRAINING AND DETRAINING ON NITRIC OXIDE AND CARBON MONOXIDE LEVELS AND THE EXPRESSION OF GENES INVOLVED IN THE SYNTHESIS OF THESE MEDIATORS IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS**

Kılıç Toprak, Emine
PhD Thesis in Physiology
Supervisor: Prof. Melek BOR-KÜÇÜKATAY (MD, PhD)

February 2015, 107 Pages

We aimed to determine the effects of swimming exercise followed by 5 (detraining) and 10 (late detraining) weeks of detraining on systolic blood pressure (SBP) in spontaneous hypertensive rats (SHRs). *eNOS*, *iNOS*, *HO-1*, *HO-2* gene expressions, serum NO metabolites (NOx) and carboxyhemoglobin (COHb) concentrations were also determined in order to explain the possible role of endothelium in the regulation of SBP. Animals were randomized into sedentary, exercised, detrained (5 weeks) and late-detrained (10 weeks) groups. Corresponding sedentary rats were grouped as Time 1-2-3. Exercise of 60 min, 5 days/week/10 weeks was applied. Detraining rats underwent the same training protocol and then discontinued training during next 5, 10 weeks. NOx level was measured by a commercial kit, blood COHb index by blood gas device. Gene and protein expressions were determined by RT-PCR and immunohistochemistry, respectively. Exercise induced decrement in SBP, but increment in blood COHb index and serum NOx levels. Aorta *eNOS*, *HO-1* gene expressions of SHR were increased while, *iNOS* and *HO-2* expressions were decreased. Alterations were statistically significant. Exercise resulted in augmentation of *HO-1*, *HO-2* gene expressions in aorta of SHR. Cessation of exercise for 5 weeks reverted the increment in aorta *HO-1* expression induced by exercise, whereas late detraining caused augmentation of *HO-2* expression in gastrocnemius muscle resistant artery of SHR which was decreased by exercise. COHb, NOx levels were decreased in response to detraining of 5 weeks. Although SBP lowering effect of exercise was reverted on the first measurement of detraining in normotensives, the decrements observed in SBP during exercise were reverted by a detraining period equal to the duration of exercise in SHR. Our results demonstrate that, NO, CO -at least partly- play role in the SBP lowering effect of exercise. Regular exercise with only short-term pauses may be advised to both normotensives and individuals who are genetically under risk of hypertension.

Key Words: Hypertension, Exercise, Detraining, Nitric Oxide, Carbon Monoxide

This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit through project numbers 2012ARŞ002 and 2013SBE002.

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim ve tez çalışmam süresince tecrübelerinden yararlandığım yalnızca tez danışmanım olarak değil her konuda fazlasıyla yardımcı olan, ilgi, sevgi ve güler yüzünü hiçbir zaman eksik etmeyen, kendisini her konuda örnek aldığım başta değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Melek BOR-KÜÇÜKATAY'a,

Bu tez çalışmamda kullandığım materyallerin temin edilmesinde ve analizlerinde her türlü desteği sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Vural KÜÇÜKATAY'a,

Tez çalışmam sürecinde yardımlarını esirgemeyen, kritik yorumlarını paylaşan Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Günfer TURGUT'a, eğitimim boyunca bana sonsuz emekleri geçen ve her türlü konuda cesaretlendiren, pes etmemeyi öğreten hocalarım Prof. Dr. Sebahat TURGUT ve Prof. Dr. Saadettin ÇALIŞKAN'a,

Tezimin planlanıp, içeriğinin düzenlenmesinde, sonuçlarının yorumlanmasında bilgi ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE ve Doç. Dr. Vildan CANER'e,

Tez çalışmamı beraber yürüttüğüm ve hayatımda kendisine özgü kişiliğiyle bir renk olan sevgili arkadaşım Araş. Gör. Özgen KILIÇ- ERKEK'e, tez çalışmam boyunca laboratuvarlarının olanakları ve tecrübelerinden sınırsız şekilde yararlandığım Tıp Fakültesi Histoloji, Tıbbi Biyoloji, Farmakoloji, Elektron Mikroskopu ve Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü hocalarıma, katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Oktay KURU, Barbaros ŞAHİN, Cansu BARIŞ, Gürkan TURHAN, Hande ŞENOL, Yusuf EKBİÇ ve asistan arkadaşlarıma; eğitimim boyunca manevi ortaklığıyla yardıma ihtiyacım duyduğum her an yanımda olan Yrd. Doç.Dr. Bilgin KIRAY-VURAL ve Yrd. Doç. Dr. Özlem KÖRÜKÇÜ başta olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bana her an sonsuz destek olan, inanan ve varlığıyla yaşamıma anlam katan sevgili eşim Op. Dr. İbrahim TOPRAK'a;

Ve beni bugünlere getiren, tüm hayatım boyunca karşılıksız destek ve sevgileriyle her koşulda yanımda olan canım aileme ayrıca bu süreçte beni sabırla bekleyen bitanecik yavrum, oğlum, uğur boncuğum Barış'ıma en yürekten teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

Şubat - 2015

Emine KILIÇ TOPRAK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç.....	2
2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMALARI	3
2.1. Hipertansiyon Tanımı ve Klinik Sınıflandırma.....	3
2.1.2. Hipertansiyon Etiyolojisi.....	3
2.1.3. Hipertansiyon Patofizyolojisi.....	4
2.1.4. Hipertansiyonun Önlenmesi ve Tedavisi.....	5
2.1.5. Hipertansiyon Üzerine Deneysel Yaklaşımlar.....	6
2.2. Nitrik Oksit.....	7
2.2.1. Nitrik Oksit Sentaz Enziminin İzofomları.....	8
2.2.2. Nitrik Oksit ve Hipertansiyon.....	10
2.2.3. Nitrik Oksit ve Egzersiz.....	11
2.3. Karbon Monoksit	12
2.3.1. Hemoksijenazlar.....	13
2.3.2. Karbon Monoksitin Etki Mekanizması.....	15
2.3.3. Karbon Monoksit ve Nitrik Oksit Etkileşimi.....	15
2.3.4. Karbon Monoksit ve Hipertansiyon.....	17
2.3.5. Karbon Monoksit ve Egzersiz.....	17
2.4. Egzersiz.....	18
2.4.1. Egzersiz Tipleri ve Egzersize Fizyolojik Yanıtlar.....	19
2.4.2. Egzersiz ve Hipertansiyon.....	20
2.4.3. Yüzme Egzersizi.....	23
2.4.4. Egzersiz Sonrası Detraining Süreci.....	23
2.5. Hipotezler.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	25
3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi ve Gruplandırılması	25

3.2. Yüzme Egzersizi ve Detraining Protokolü.....	27
3.3. Vücut Ağırlığı Ölçümü.....	27
3.4. Kalp Hızı ve Kan Basıncı Ölçümü.....	27
3.5. Deneyin Sonlandırılması, Kan ve Damar Örneklerinin Alınması.....	29
3.6. Damar Dokularından Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi.....	29
3.6.1. Damar Dokularından Total RNA İzolasyonu.....	29
3.6.2. Total RNA Konsantrasyonlarının ve Saflık Derecelerinin Belirlenmesi	31
3.6.3. Total RNA Örneklerinden cDNA Sentezi.....	31
3.6.4. Gerçek-zamanlı Kantitatif PCR (Real-time PCR) Analizleri.....	32
3.7. İmmünohistokimyasal Ölçüm.....	34
3.7.1. Doku Takip Yöntemi.....	34
3.7.2. İmmünohistokimyasal Boyama.....	34
3.8. Western Blot Tekniği ile Aort ve Gastrocnemius Kası Direnç Arterinden iNOS, eNOS, HO-1 ve HO-2 Protein Miktarı Tayini.....	35
3.9. Serum Nitrik Oksit Metabolitleri (NOx "nitrit+nitrat") Düzeyi Ölçümü.....	36
3.10. Kan Karboksihemoglobin İndeksinin Belirlenmesi.....	36
3.11. İstatistiksel Analiz.....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. Vücut Ağırlıkları Değerleri.....	38
4.2. Kalp Hızı ve Kan Basıncı Değerleri.....	38
4.3. Aort ve Gastrocnemius Kası Direnç Arterlerinde iNOS, eNOS, HO-1 ve HO-2 Genleri mRNA Ekspresyon Düzeyleri.....	40
4.4. İmmünohistokimyasal Boyama Sonuçları.....	48
4.5. Western Blot Analizi Sonuçları.....	62
4.6. Serum Nitrik Oksit Metabolitleri (NOx "nitrit+nitrat") Düzeyi Sonuçları...	63
4.7. Kan Karboksihemoglobin İndeksi Sonuçları.....	63
5. TARTIŞMA.....	65
6. SONUÇLAR.....	77
7. KAYNAKLAR.....	79
8. ÖZGEÇMİŞ.....	93

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Nitrik oksit sentaz enziminin yapısı.....	7
Şekil 2.2 eNOS enziminin endotel hücrelerde Ach ile uyarılması.....	10
Şekil 2.3 Hem katabolizması ve endojen CO üretimi.....	12
Şekil 2.4 CO'nun arteriyel düz kasta BK _{Ca} kanalları aracılığıyla vazodilatasyon etkisi.....	15
Şekil 2.5 NO ve CO'nun karşılıklı etkileşimi.....	15
Şekil 3.1 Kan basıncı ve kalp hızının hesaplanmasında kullanılan trase.....	28
Şekil 4.1 Deney gruplarının vücut ağırlığı ölçümleri (gr).....	39
Şekil 4.2 Deney gruplarının kalp hızı ölçümleri (atım/dk).....	40
Şekil 4.3 Deney gruplarının sistolik kan basıncı ölçümleri (mmHg)	41
Şekil 4.4 Grupların aort iNOS mRNA ekspresyon düzeyleri.....	42
Şekil 4.5 Grupların aort eNOS mRNA ekspresyon düzeyleri.....	43
Şekil 4.6 Grupların aort HO-1 mRNA ekspresyon düzeyleri	44
Şekil 4.7 Grupların aort HO-2 mRNA ekspresyon düzeyleri.....	44
Şekil 4.8 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde iNOS mRNA ekspresyon düzeyleri.....	45
Şekil 4.9 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde eNOS mRNA ekspresyon düzeyleri.....	46
Şekil 4.10 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde HO-1 mRNA ekspresyon düzeyleri.....	47
Şekil 4.11 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde HO-2 mRNA ekspresyon düzeyleri.....	48
Şekil 4.12 Gruplarda aort iNOS proteinlerinin yerleşimi.....	50
Şekil 4.13 Gruplarda aort eNOS proteinlerinin yerleşimi.....	51
Şekil 4.14 Gruplarda aort HO-1 proteinlerinin yerleşimi.....	52
Şekil 4.15 Gruplarda aort HO-2 proteinlerinin yerleşimi.....	53
Şekil 4.16 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde iNOS proteinlerinin yerleşimi.....	54
Şekil 4.17 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde eNOS proteinlerinin yerleşimi.....	55
Şekil 4.18 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde HO-1 proteinlerinin yerleşimi.....	56
Şekil 4.19 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde HO-2 proteinlerinin	

yerleşimi.....	57
Şekil 4.20 Grupların aort iNOS H skoru.....	58
Şekil 4.21 Grupların aort eNOS H skoru.....	59
Şekil 4.22 Grupların aort HO-1 H skoru.....	59
Şekil 4.23 Grupların aort HO-2 H skoru.....	60
Şekil 4.24 Grupların gastrocnemius kası direnç arterleri iNOS H skoru.....	60
Şekil 4.25 Grupların gastrocnemius kası direnç arterleri eNOS H skoru.....	61
Şekil 4.26 Grupların gastrocnemius kası direnç arterleri HO-1 H skoru.....	62
Şekil 4.27 Grupların gastrocnemius kası direnç arterleri HO-2 H skoru.....	62
Şekil 4.28 Grupların serum NO metabolitleri (NOx "nitrit+nitrat") düzeyi.....	63
Şekil 4.29 Grupların kan karboksihemoglobin indeksi değerleri (%).....	64

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1 <i>American Joint National Committee</i> (JNC VII) raporuna göre (2003) hipertansiyon sınıflaması (18 yaş ve üstü).....	3
Tablo 3.1 Deney gruplarının oluşturulması.....	26
Tablo 3.2 NOS 3 (<i>eNOS</i>), NOS 2 (<i>iNOS</i>), <i>HO-1</i> , <i>HO-2</i> ve β - <i>aktin</i> mRNA ekspresyon analizinde kullanılan özgün primerlerin dizilimleri (5'→3') ve UPL prob numaraları.....	32
Tablo 3.3 <i>eNOS</i> , <i>iNOS</i> , <i>HO-1</i> , <i>HO-2</i> ve β - <i>aktin</i> genlerinin mRNA düzeyinde kantitasyonu amacı ile hazırlanan reaksiyon karışımı	33
Tablo 3.4 <i>eNOS</i> , <i>iNOS</i> , <i>HO-1</i> , <i>HO-2</i> ve β - <i>aktin</i> genlerinin mRNA düzeyinde kantitasyonu amacı ile uygulanan gerçek-zamanlı PCR protokolü.....	33

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
ACE.....	Anjiotensin dönüştürücü enzim
Ach.....	Asetilkolin
ACSM.....	Amerikan spor tıp enstitüsü
ADP.....	Adenozin difosfat
ASH-ISH.....	Amerika hipertansiyon derneği-Amerika kardiyoloji derneği
Ang I.....	Anjiotensin I
Ang II.....	Anjiotensin II
ATP.....	Adenozin trifosfat
BH ₄	Tetrahidrobiopterin
BK _{ca}	Kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalları
Ca ⁺⁺	Kalsiyum iyonu
CaM.....	Kalmodulin
cDNA.....	Komplementer deoksiribonükleik asit
cGMP.....	Siklik guanozin monofosfat
cNOS.....	Yapısal nitrik oksit sentaz
CO.....	Karbon monoksit
COHb.....	Karboksihemoglobin
DAB.....	3,3'diaminobenzidine
DAG.....	Diaçil gliserol
DEHAB.....	Deney hayvanları araştırma birimi
DKB.....	Diyastolik kan basıncı
DNA.....	Deoksiribonükleik asit
DOCA.....	Deoksikortikosteron asetat
EDHF.....	Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör
eNOS.....	Endotelial nitrik oksit sentaz
ESH-ESC.....	Avrupa hipertansiyon derneği – Avrupa kardiyoloji derneği
ET-1.....	Endotelin-1
FAD.....	Flavin adenin dinükleotid
Fe.....	Demir
FMN.....	Flavin mononükleotid
HADEK.....	Hayvan deneyleri etik kurulu
Hb.....	Hemoglobin
HCl.....	Hidroklorik asit
HO.....	Hemoksijenaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HRP-SA.....	Horseradish peroksidaz konjugatı streptavidin
HSP 32.....	Isı şok proteini-32
HT.....	Hipertansiyon

IU/ml.....	İnternasyonal ünite/mililitre
IL.....	İnterlökin
IP ₃	İnozitol trifosfat
iNOS.....	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
JNC.....	Amerika Birleşik Devletleri ulusal komitesi
K ⁺	Potasyum
KB.....	Kan basıncı
L-Arg.....	L-Arjinin
L-OHArj.....	Hidroksi-L-arjinin
mRNA.....	Haberci ribonükleik asit
N ^G	Guanidino nitrojen
Na ⁺	Sodyum iyonu
NaCl.....	Sodyum klorür
NAPDH.....	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
nNOS.....	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO.....	Nitrik oksit
NO ₂ ⁻	Nitrit
NO ₃ ⁻	Nitrat
NOx.....	Nitrit+nitrat
NOS.....	Nitrik oksit sentaz
O ₂ ⁻	Süperoksit anyonu
O ₂	Moleküler oksijen
OONO ⁻	Peroksinitrit anyonu
PBS.....	Fosfat tamponu
RT-PCR.....	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
PGE ₂	Prostaglandin-E ₂
PIP ₂	Fosfotidil inozitol bifosfat
PVDF.....	Polyvinylidene difluoride
RAAS.....	Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi
RIPA.....	Radioimmunopresipitasyon
RLT.....	RNeasy lizis tamponu
RNA.....	Ribonükleik asit
ROS.....	Reaktif oksijen türleri
RNS.....	Reaktif nitrojen türleri
Rpm.....	Dakikadaki devir sayısı
RT.....	Reverse transkriptaz
sGC.....	Eriyebilir guanilat siklaz
SH.....	Standart hata
SHR.....	Spontan hipertansif rat
SKB.....	Sistolik kan basıncı
SPSS.....	Statistical package for social sciences
SSS.....	Sempatik sinir sistemi
TBS.....	Tris buffered saline
TXA ₂	Tromboksan A ₂
TNF-α.....	Tümör nekrozis faktörü-α
UPL.....	Universal probe library
UVA.....	Ultraviyole
VO _{2max}	Maksimal oksijen tüketimi
WKY.....	Wistar Kyoto

1. GİRİŞ

Hipertansiyon (HT) zamanla kalpte ve arterlerde geri dönüşümsüz değişikliklere yol açabilen, sık görülen önemli bir halk sağlığı sorunudur (Lewington vd 2002, Agarwal vd 2009). Patogenezinde endotelial disfonksiyon önemli bir yer tutmaktadır (Taddei vd 1983). Nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO) endotelden salgılanan ve vazomotor tonusun düzenlenmesinde rol oynayan iki önemli vazodilatatör etkili mediatördür (Moncada vd 1991, Durante vd 2006). Bunlardan NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenmektedir. NOS enziminin endotelial (eNOS), indüklenebilir (iNOS) ve nöronal (nNOS) olmak üzere 3 izoformu vardır (Alderton vd 2001). Bunlar arasında eNOS ve iNOS endotelial fonksiyonun korunmasında önemlidir (Moraes-Teixeira vd 2010). CO ise vücudumuzda hem'in, hem oksijenaz (HO) enzimi ile yıkılmasıyla oluşmaktadır. HO enziminin HO1, HO2 ve HO3 olmak üzere üç izoformu gösterilmiş olup düz kas ve endotelde major 2 formu olan indüklenebilir HO1 ve yapısal HO2'nin varlığı bilinmektedir (Ushiyama vd 2002, Ryter vd 2006). CO'nun NO için bir yedekleme (back up) molekülü olduğu ileri sürülmektedir. Çeşitli HT türlerinde bu iki mediatörün doku/kan düzeylerinde ve bunları sentezleyen enzim ekspresyon ve miktarlarında değişiklikler olduğu gösterilmiştir (Kajimura vd 2003, Durante vd 2006, Stec vd 2008). HT tedavisinde ilaç uygulamasına ek olarak egzersiz, diyet ve bunlarla ilişkili yaşam şekli değişikliği önemli bir yer tutmaktadır. Hafif-orta şiddetli, büyük kas gruplarını içeren aerobik egzersiz protokolleri bir süredir hipertansiyon gelişiminin önlenmesi ve tedavisinde önerilmektedir (Graham ve Rush 2004, Sun vd 2008, Agarwal vd 2009). Hipertansif bireyler ve hayvan modellerinde egzersizin kan basıncını düşürücü etkisinin mekanizması henüz net olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bununla beraber, bu süreçte endotelial NO üretimi artışının rolü olduğu gösterilmiştir.

Özellikle toplumumuzda egzersizin sürdürülmesi ile ilgili sorunlar yaşanmaktadır. Egzersize başlayan bireyler arasında bir süre sonra çeşitli sebeplerle bırakma oranı çok yüksektir (detraining). Literatürde hipertansif sıçanlara belli bir süre egzersiz yaptırdıktan sonra detraining uygulanarak kan basıncı ve NOS enzim

miktarındaki değişimleri izleyen az sayıda çalışma olmasına rağmen, egzersizle indüklenen kan basıncı azalmasının detraining sürecindeki seyri, eğer tansiyon tekrar yükselecekse bunun ne kadarlık bir detraining süreci sonrası meydana geleceği ve bu süreçte endotelin rolü netlik kazanmamıştır. Oysa bu soruların cevaplarının bilinmesi hipertansif hastalar veya genetik olarak risk altındaki bireyler ve sağlık personeli için önem taşımakta olup yeni egzersiz/tedavi protokollerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilecektir.

1.1. Amaç

Yukarıda özetlenen bilgiler ışığında bu çalışma kapsamında, insandaki esansiyel HT'ye karşılık gelen SHR modelinde egzersiz ve detraininge cevaben kan basıncı değişimleri ve bu değişimlerde endotelin rolünün incelenmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMALARI

2.1. Hipertansiyon Tanımı ve Klinik Sınıflandırma

Hipertansiyon (HT), erişkinlerde farklı zamanlardaki en az iki ölçüm ortalamasında, sistolik kan basıncı (SKB)'nin ≥ 140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı (DKB)'nin ≥ 90 mmHg olması şeklinde tanımlanmaktadır (Mancia vd 2013, Bolivar 2013, Weber vd 2014). HT sınıflaması incelendiğinde SKB ve DKB'nin beraber arttığı durum "kombine HT" olarak tanımlanırken, sadece SKB'nin yüksek olup (SKB >140 mmHg) DKB'nin ise 90 mmHg altında olduğu duruma ise "izole sistolik HT" denir. SKB yaşla beraber arteriyel sertlik gelişimine bağlı olarak artarken, DKB 60'lı yaşlarda plato çizer ve sonra gittikçe azalır (Chobanian vd 2003, Weber vd 2014).

HT kalpte ve arterlerde geri dönüşümsüz değişikliklere yol açarak hedef organ hasarına neden olabilen önlenemez önemli bir risk faktörüdür (Lewington vd 2002, Agarwal vd 2009, Androulakis vd 2009, Lehnen vd 2010). Yüksek riskli bireyleri saptamak, izlemek ve tedavi hedeflerini belirlemek amacıyla aşağıdaki sınıflama oluşturulmuştur (Chobanian vd 2003) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1 *American Joint National Committee* (JNC VII) raporuna göre (2003) hipertansiyon sınıflaması (18 yaş ve üstü)

Sınıflandırma	SKB (mmHg)	DKB (mmHg)
Normal	<120	<80
Prehipertansiyon	120-139	80-89
Evre 1 HT (Hafif HT)	140-159	90-99
Evre 2 HT (Orta HT)	≥ 160	≥ 100

2.1.2. Hipertansiyon Etyolojisi

HT etyopatolojisi hakkındaki bilgiler halen çok kısıtlı olmakla birlikte, sebebi bilinmeyen ve olguların %90-95'ini oluşturan "**Primer, İdiyopatik veya Esansiyel HT**"

ve KB yükselmesinin başka bir hastalığa bağlı olduğu “**Sekonder HT**” olarak iki farklı HT tipi tanımlanmıştır.

Primer (Esansiyel) HT: Primer HT'nin etyopatogenezinde ileri sürülen mekanizmalar, genetik faktörler, obezite, stres, düşük aktivite düzeyi (sedanter yaşam tarzı), endotel disfonksiyonu, aşırı sempatik aktivite, hemodinamik değişiklikler, ekstraselüler sıvı ve sodyum metabolizmasındaki bozulma, renin-angiotensin sistemi değişiklikleri, periferik direnç artışı, hücre membran değişiklikleri, insülin rezistansı, hiperinsülinemi ve serbest radikal artışı şeklinde sıralanabilir (Babalık 2005, Androulakis vd 2009).

Sekonder Hipertansiyon: Sekonder HT ise gebelik, renal, endokrin ve nörolojik hastalıklar gibi bilinen bir etyolojiden kaynaklanmaktadır (Fagard 2011, Weber vd 2014).

2.1.3. Hipertansiyon Patofizyolojisi

Sistemik kan basıncını belirleyen ve birbiriyle etkileşen birçok faktör olması nedeniyle HT'den sorumlu tek bir etiyoloji veya patofizyolojik mekanizma yoktur (Androulakis vd 2009). KB'nin normal düzeylerde sürdürülebilmesi, organizmada böbrekler, santral sinir sistemi, periferik sinir sistemi, vasküler endotel ve adrenal bez arasındaki karmaşık etkileşimle sağlanmaktadır. Normal şartlarda, bir bozukluk durumunda kompanse edici mekanizmaların devreye girmesiyle KB artışı hemen ortaya çıkmamaktadır. Ancak, KB düzenlenmesinde rol oynayan sistemlerin bir çoğundaki organizasyon değişikliği nedeniyle dengelerin bozulması ve bu durumun normal fizyolojik onarıcı mekanizmalarla düzeltilememesi sonucu HT gelişmektedir (Sun ve Zhang 2005, Ohta vd 2011, Bolivar 2013). HT oluşumunda endotelial disfonksiyon da önemli rol oynamaktadır (Babalık 2005, Takahashi vd 2011).

Endotelial Disfonksiyon: Vücudun her tarafına yayılmış endotel tabakası, sadece anatomik olarak dokularla kan arasında bulunan pasif bir bariyer olmayıp, sentezlediği mediyatörler ile vasküler homeostazın ana regülatörü olan aktif bir organdır (Aird 2004). Endotel hücreleri, vasküler ağdaki tüm kan damarlarının iç yüzeyini kaplayarak; nitrik oksit (NO), karbon monoksit (CO), prostasiklin, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF), kallikrein, prostaglandin-E2 (PGE2) gibi vazodilatatörlerin yanı sıra; renin, serotonin, tromboksan A2 (TXA2), endotelin-1 (ET-1), Ang II gibi vazokonstriktörlerin salınımına aracılık ederek kan basıncı ve kan akımı kontrolüne katkıda bulunurlar (Aird 2004, Versari vd 2009). Bu maddelerin salınımında meydana gelen dengesizlikler, endotele bağlı vazodilatasyon cevabının bozulması, vazokonstriktörlere olan hassasiyetin artması ile endotelial disfonksiyon gelişimine neden olur (Török 2008). Damar lümen regülasyonu anormalleşir ve bu durum periferik

damarlarda direnç artışı, vazospazm, trombüs oluşumu, ateroskleroz ve HT ile sonuçlanır (Endemenn ve Schrieffrin 2004, Versari vd 2009). NO, endotelden salınan, düz kasta vazodilatasyon sağlayan ve vazomotor tonusun düzenlenmesinde rol oynayan en önemli mediatörlerden birisi olup sağlam damar endotelinde bazal bir hızla sürekli salınır. NO'nun aktivitesinde veya üretiminde azalma ile vazodilatatör cevap bozulmaktadır (Marin ve Rodriguez-Martinez 1997, Albrecht vd 2003). Hipertansif bireylerde, endotelden NO salınımı, diğer biyolojik moleküller aracılığıyla NO yıkım hızı ve/veya damar düz kasının NO'ya duyarlılığının değişmesine bağlı NO biyoyararlanımının azaldığı iyi bilinmektedir (Graham ve Rush 2004). Bunların yanı sıra reaktif oksijen türleri (ROS) NO ile reaksiyona girerek, sitotoksik bir oksidan olan peroksinitrit anyonu (ONOO⁻) meydana getirirler, bu durumda da NO'nun vasküler biyoyararlanımı azalır ve hücre hasarı tetiklenir. Bu nedenle artmış oksidatif stres, endotelyal disfonksiyon patogeneğinde önemli mekanizma olarak kabul edilmektedir (Endemenn ve Schrieffrin 2004, Androulakis vd 2009). Endotelden salınan, vasküler tonus üzerine etkili bir diğer önemli ajan da CO'dur (Ushiyama vd 2002, Durante vd 2006, Stec vd 2008). Çeşitli HT türlerinde NO ve CO'nun doku/kan düzeylerinde ve bunları sentezleyen enzim ekspresyon ve miktarlarında değişiklikler olduğu gösterilmiştir (Ushiyama vd 2002, Ryter vd 2006).

2.1.4. Hipertansiyonun Önlenmesi ve Tedavisi

1-Non-farmakolojik tedavi: Hedef organ tutulumu olmayan hafif HT'de başlangıç tedavisi olarak veya erken saptanan esansiyel HT'de ilaçlara ek olarak non-farmakolojik tedavi önerilmektedir. Non-farmakolojik tedavi, HT gelişiminin önlenmesi ve tedavisinde anahtar rol oynayan yaşam biçimi değişikliklerini kapsar (Mancia vd 2013, Weber vd 2014). Başlıca yaşam tarzı değişiklikleri; düzenli olarak hafif-orta şiddette egzersiz yapmak, ideal kiloda olmak ve onu korumak, aşırı Na⁺ tüketimini azaltmak (<6 g NaCl/gün), sigara ve alkolden uzak durmak, potasyum (K⁺) tüketimini arttırmak (günde 100 mmol), sebze-meyveden zengin beslenmek, doymuş ve toplam yağ alımını azaltmak, ağır fiziksel aktivitelerden kaçınmak ve stresle baş etmeyi içermektedir (Mancia vd 2013, Weber vd 2014).

HT'nin önlenmesi ve tedavisinde en önemli yaşam tarzı değişikliği, düzenli yapılan fiziksel egzersizdir (Chobanian vd 2003, Pescatello vd 2004, Agarwal vd 2009, Lehnen vd 2010). Fiziksel aktivitenin KB'yi azaltıcı etkisinin mekanizması net olarak bilinmemektedir. Bununla beraber, egzersizin, normal vazomotor tonusun korunması ve kan akışkanlığının sağlanmasına katkıda bulunarak endotel disfonksiyonunu

iyileştirdiği, kayma geriliminde artışla NO üretimini uyardığı gösterilmiştir (Sherman 2000).

2-Farmakolojik Tedavi: İlaçlı tedavide öncelikli olarak ilaç başlanacak hastalar iyi belirlenmeli ve basamaklı tedavi yaklaşımı uygulanmalıdır (Mancia vd 2013, Weber vd 2014). HT tedavisinde kullanılan ilaçlar 4 ana grupta toplanabilir. Bunlar, diüretikler, sempatolitikler ya da adrenerjik sinir sistemi antagonistleri, RAAS'ı etkileyen ilaçlar, damar düz kasında etkili olan ilaçlar şeklindedir (Chobanian vd 2003, Mancia vd 2013, Weber vd 2014).

2.1.5. Hipertansiyon Üzerine Deneysel Yaklaşımlar

HT mekanizmasını ve tedavi protokollerini aydınlatmak amacıyla çok farklı deneysel modeller geliştirilmiştir. Etik problemler ve daha detaylı girişimsel araştırma gereksinimi nedeniyle HT çalışmalarında deney hayvanlarından da sıklıkla yararlanılmaktadır (Lerman vd 2005, Sun ve Zhang 2005). Deney hayvanlarında oluşturulan başlıca HT modellerini genetik ve genetik olmayan şekilde ikiye ayırmak mümkündür.

1-Genetik modeller: İnsanda esansiyel HT en sık görülen HT tipidir ve etyolojisinde tek bir genetik defektten değil, çok sayıda farklı genden söz edilmektedir. İnsan ve fare genomları kodlanıp, transgenik ve gen hedefli HT modelleri oluşturulmuştur.

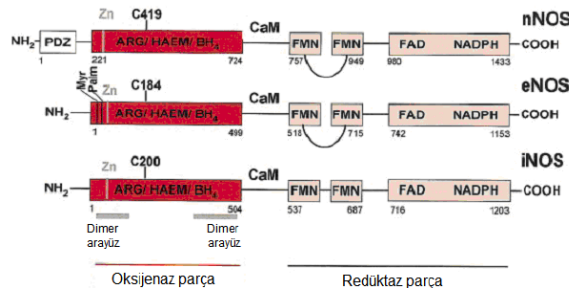
Spontan Hipertansif Sıçanlar: Spontan hipertansif sıçan (SHR) insan esansiyel hipertansiyonu için iyi bir hayvan modeli olup, kardiyovasküler hastalıkların incelenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Lehnen vd 2010). 1960'larda Okamoto ve arkadaşları tarafından KB yüksek olan Wistar-Kyoto (WKY) sıçanlar seçilerek, en az birkaç nesil boyunca kendi aralarında çiftleştirilmesiyle SHR modelleri oluşturulmuştur (Okamoto ve Aki 1963). Model 20 jenerasyon boyunca genetik homojenitesini korumaktadır (Lerman vd 2005). Doğumda normotansif olan SHR'lerde KB artışı 5.-6. haftalarda başlar ve 13 haftalık olduklarında ise yerleşik HT'li olarak kabul edilmektedirler. SHR'lerde 40-50. haftalardan başlayarak kalp ve damar hipertrofisi gibi kardiyovasküler hastalıkların karakteristik özellikleri gelişmeye başlamaktadır (Conrad vd 1995, Amenta vd 2010).

2-Genetik olmayan modeller: Bu hayvan modelleri özellikle son organ hasarının detaylı araştırılmasına olanak sağlamaktadır (Lerman vd 2005). Bu modeller; Cerrahi indüksiyonla geliştirilen model (Goldblatt hipertansiyon modeli), Endokrin-metabolik ve diyetle tetiklenen modeller (DOCA-tuz hipertansiyon modeli ve Dahl- tuz hipertansiyon modeli), NOS blokajı ile oluşturulan model olarak özetlenebilir.

2.2. Nitrik Oksit

NO, bir nitrojen ve bir oksijen atomundan oluşan, lipofilik, gaz halinde bulunan, reseptöre bağımlı olmadan kolayca difüze olabilen, çok kısa yarı ömürlü, eşleşmemiş elektron içeren, serbest radikal olarak da nitelendirilen, renksiz, inorganik bir moleküldür (Olson ve Garban 2008). NO, organizmada pek çok hücrede sitokrom p-450 redüktaz enziminin homoloğu olan NOS enzimlerinin katalizlediği bir reaksiyonla, L-arjinin'in terminal guanidino nitrojeninden sentezlenmektedir (Marin ve Rodríguez-Martínez 1997, Shinde vd 2000, Török 2008, Förstermann ve Sessa 2012). NO sentezi 2 basamakta gerçekleşir: Birinci basamak L-arjininin, N^G(guanidino nitrojen)-hidroksi-L-arjinine hidrosilasyonudur (L-OHArj oluşumu) ve dolayısıyla arjinin aminoasidinin yapısına bir oksijen atomu katılmış olur. İkinci basamakta ise, L-OHArj'nin C=N bağı oksidatif olarak parçalanır ve sonuçta sitrülün ve NO oluşur (Marin ve Rodríguez-Martínez 1997, Albrecht vd 2003, Förstermann ve Sessa 2012). Pek çok hücrede sitrülün enzimatik olarak arjinine tekrar dönüşüp daha fazla NO sentezine neden olur. İkinci basamakta kofaktör olarak tetrahidrobiopterin (BH₄), flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD) ve sitokrom P450 kullanılır (Förstermann ve Sessa 2012).

NOS enziminin 3 izoformu olduğu gösterilmiştir. NOS enzimi 'oksijenaz ve redüktaz' olmak üzere 2 adet globüler protein içerir. Oksijenaz bölgesi, protoporfirin IX (hem), L-Arjinin aminoasidi ve BH₄ için; redüktaz bölgesi ise FMN, FAD ve indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) için gerekli bağlanma alanlarını içermektedir (Marin ve Rodríguez-Martínez 1997, Pfeilschifter 2000, Alderton vd 2001). NADPH, NO sentezi için ana elektron taşıyıcısıdır. FAD ve FMN'nin her biri NADPH'dan ikişer elektron alır ve kalmodulin (CaM) aracılığıyla bunları oksijenaz bölgesindeki hem grubuna tek tek aktarır (Alderton vd 2001, Förstermann ve Sessa 2012) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Nitrik oksit sentaz enziminin yapısı (Alderton vd 2001).

BH₄: Tetrahidrobiopterin, L-Arg: L-Arjinin, CaM: Kalmodulin, FMN: Flavin mononükleotid, FAD: Flavin Adenin Dinükleotid, NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat.

NO enzimatik bir mekanizmayla sentezlenmesine rağmen onu bulunduğu ortamdan uzaklaştıran özel bir enzim sistemi yoktur. Yarılanma ömrü kısa olduğundan (3-5 sn) sentez sonunda oluşan NO hızlı ve kararlı biçimde okside edilerek esas yıkım ürünü olan nitrit (NO_2^-)'e dönüşür. Plazmada bulunan NO_2^- , eritrositler tarafından hücre içine alınarak methemoglobin tarafından nitrat (NO_3^-)'a oksitlenebilir. NO_3^- daha sonra plazmaya tekrar geçmektedir (Mateo ve de-Artinano 2000). Plazmada bulunan NO'nun bir diğer yıkım yolu da, patolojik şartlarda süperoksit anyonu (O_2^-) ile hızlı bir şekilde reaksiyona girmesidir. Böylece güçlü ve sitotoksik bir oksidan olan ONOO^- oluşur (Kılınç ve Kılınç 2003, Olson ve Garban 2008).

2.2.1. Nitrik Oksit Sentaz Enziminin İzofomları

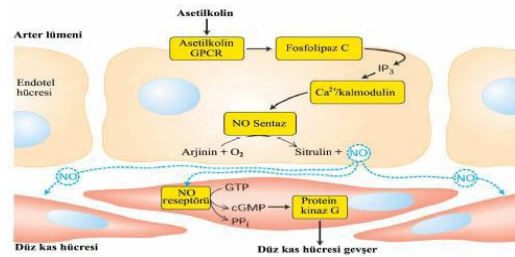
NO oluşumunu sağlayan NOS enziminin ikisi yapısal (cNOS; bunun da iki subtipi vardır; eNOS ve nNOS), biri uyarılabilen (iNOS) olmak üzere üç izoformu vardır. Bu izoformların tarihsel saflaştırılma (cDNA izolasyonu) sırasına göre nNOS için NOS-1, iNOS için NOS-2, eNOS için NOS-3 şeklinde sayısal isimlendirmeleri de vardır (Panda vd 2002). NOS-1 ve NOS-3 sabit ekspresyonu (duvar kayma kuvveti (shear stress), egzersiz gibi bazı durumlarda uyarılabilir) olan enzimlerken, NOS-2 interlekin 1, TNF- α , IFN- γ ve bakteriyel endotoksinler gibi inflamatuvar sitokinler tarafından uyarılabilir. Bu izoformların aminoasit dizilimi ve biyokimyasal özellikleri benzerlik göstermekle birlikte başlıca buldukları yerler, aktivatörleri, regülasyonları, katalitik özellikleri ve inhibitör duyarlılıkları birbirinden farklıdır (Barbato 2004). nNOS veya NOS-1 ilk olarak sıçan nöronlarında, eNOS veya NOS-3 sığır endotel hücrelerinde ve iNOS veya NOS-2 ise ilk olarak kemirgen makrofajlarında tespit edilmiştir (Shinde vd 2000, Kuyumcu vd 2004). iNOS ve nNOS eriyebilir enzimlerken, eNOS tanecik şeklindedir (Marin ve Rodríguez-Martínez 1997). Yapısal (cNOS) izoformlar (eNOS ve nNOS), damar endotelinde asetikolin (Ach), beyinde glutamat veya trombositlerde kollajen gibi agonistlere yanıt olarak fizyolojik miktarlarda NO sentezlerler (Shinde vd 2000). Klasik olarak eNOS ve nNOS; Ca^{+2} -CaM bağımlı, iNOS ise Ca^{+2} -CaM bağımsız enzimler olarak bilinir (Marin ve Rodríguez-Martínez 1997). eNOS ve nNOS'un sentez süreleri kısa, sentezlenen NO miktarı düşüktür. Bunun sebebi hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun azalmasıyla yapısal enzimlerin inaktif duruma geçmesidir. iNOS enziminin dimerik formu ise, CaM molekülüne, Ca^{+2} 'dan etkilenmeden, geri dönüşümsüz bağlanır. Bu nedenle iNOS bir kez eksprese olduğunda substrat ve diğer ko-faktörlerce sınırlanana kadar NO sentezlemeye devam eder. Aktivitesi uzun sürer ve fazla miktarda NO üretilir (Alderton vd 2001).

iNOS özellikle non-spesifik immünyetede önemli rol oynamaktadır. Makrofaj, endotel hücresi, nötrofil, düz kas hücresi, kardiyomyositler, hepatositler, dalağın kırmızı pulpası, histiyositler gibi pek çok hücre, spesifik bir sitokinle [interferon- γ , endotoksin, tümör nekrozis faktör-alfa ve beta (TNF- α ve TNF- β), interlökin-1 (IL-1)] veya bakteriyel lipopolisakkaritler ile aktive edildiklerinde, iNOS tarafından uyarılan NO üretimi, birkaç saatlik bir gecikme ile başlasa da saatler günler boyunca devam edebilir (Nathan ve Hibbs 1991, Blaise vd 2005).

eNOS enzimi bazal koşullarda, endotel hücresinde sürekli olarak, az miktarda NO sentezi yapmaktadır. eNOS enzimi iskelet kasları, kardiyak myozitler, trombositler, böbrek tübüler epitel hücreleri, insan plasentasının sinsitotrofoblastları, fibroblastlar, erekör pili kası, rat hipokampusu nöronlarında ve başka beyin bölgelerinde de saptanmıştır (Förstermann ve Sessa 2012). eNOS düz kasların gevşemesi, kan basıncı ve kan akım hızının düzenlenmesi, vasküler tonusun düzenlenmesi; trombosit adhezyon ve agregasyonu ile damar düz kas hücre proliferasyonunun inhibe edilmesi, renal oksijen tüketimi ve anjiyogeneziste rol almaktadır (Alderton vd 2001, Versari vd 2009). Düzenli egzersizin de damar endotelinde eNOS gen ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Boa vd 2014, Yang vd 2014). Koroner arter hastalığı, myokard infarktüsü, HT, inme ve renal hastalıklar gibi pek çok vasküler bozukluk eNOS geni polimorfizmi ile ilişkili bulunmuştur (Cui vd 2013).

NO sentez ve salınımının damarlarda en önemli uyarıcısı duvar kayma kuvveti (*shear stress*)'dir. Duvar kayma kuvveti, kalbin her sistolde kanı damarlara göndermesi sonucu damar endotelinin yüzeyinde oluşturduğu mekanik etkidir. Bu etki ile endotel hücreleri şekil değişikliğine uğrarken, hücre iskeleti aracılığıyla hücre içine sinyaller gönderir. Bunun sonucunda protein kinaz B aktive olmakta endotelial hücre zarındaki Ca^{+2} kanallarının açılmasıyla hücre içi Ca^{+2} seviyesi artarak eNOS'u fosforile edip, aktive olmasını sağlamaktadır. Sonuçta endotel hücrelerinin duvar kayma kuvvetine maruz kalması sürekli NO salınımı ile sonuçlanır (Sessa 2005). NO'nun, düz kas hücresine difüze olduktan sonra cGMP'yi arttırarak düz kas hücresinin gevşemesine neden olduğu ve bu durumun 6 farklı mekanizma ile vazodilatasyon sağladığı gösterilmiştir (Marin ve Rodriguez-Martinez 1997, Pfeilschifter 2000). Sarkoplazmik retikulumda Ca^{+2} -ATPaz'ın aktivasyonu ile hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunu azaltır, miyozin hafif zincirinin defosforilasyonunu sağlar, düz kas hücre membranındaki reseptör aracılı Ca^{+2} kanallarını inhibe eder, hücre içi Ca^{+2} düzeyinin düşmesini sağlayan Ca^{+2} taşıyıcılarının, G proteinlerinin, reseptörlerin ve kanal proteinlerinin fosforilasyonunu sağlar, membrandaki Ca^{+2} -ATPaz'ı uyarır ve K^{+} kanallarından K^{+} geçişinin arttırılmasıyla hiperpolarizasyon oluşturur.

Endotel hücrelerinden ACh salınımına neden olan lokal bir kolinerjik mekanizma da tanımlanmıştır. Salınan ACh komşu endotel hücre yüzeyinde bulunan muskarinik tip reseptörlerine (G proteinine bağlı reseptöre) bağlanarak, G proteininde konformasyonel bir değişikliğe neden olur ve fosfolipaz-C'yi aktifler. Aktiflenen fosfolipaz-C, fosfotidil inozitol bifosfatı (PIP₂), inozitol trifosfat (IP₃) ve diaçil gliserol (DAG)'a dönüştürür. Sitoplazmada IP₃ artışı sarkoplazmik retikulumda depolanmış Ca⁺²'un sitoplazmaya geçişini tetiklemekte ve sitoplazmada Ca⁺²-kalmodulin kompleksi oluşarak NOS enzimi aktiflenerek NO sentezi gerçekleşmektedir (Weller 1997). Diğer taraftan ACh gibi hücre içi Ca⁺² düzeylerini arttıran histamin, trombin, serotonin, adenosin difosfat (ADP), bradikinin, norepinefrin, P maddesi gibi bileşikler de, vasküler endotelden Ca⁺²'a bağımlı bir enzim olan eNOS enzimini aktive ederek, NO sentez ve salınımını arttırabilmektedirler (Sessa 2005) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 eNOS enziminin endotel hücrelerde ACh ile uyarılması (Weller 1997).

2.2.2. Nitrik Oksit ve Hipertansiyon

NO'nun HT'deki rolü henüz net olarak açıklanamamıştır. HT'de azalan NO'nun, HT'nin nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu tartışmalıdır. İlk olarak NO salınımı azalınca ve/veya biyoyararlanımı bozulunca HT oluşur yani HT azalan NO sonucu oluşur hipotezini açıklayacak olursak; HT patogeneğinde endotel vazokonstriktör (endotelin, TXA₂) ve vazodilatör (PG, NO, EDHF) ajanların aralarındaki denge bozulmaktadır yani NO eksikliği HT'ye sebep olabilir (Marin ve Rodriguez-Martinez 1997, Gerova vd 2000). Ayrıca NO, büyük arterlerden en küçük kapiller damarlara kadar bütün endotel dokularında bulunmakta ve sağlam damar endotelinde bazal bir hızda üretilmektedir ancak NO'nun vazorelaksasyon etkisi damar çapına bağlı olarak değişmektedir. Aort vazodilatasyonu büyük oranda NO bağımlıyken, küçük direnç arterlerinde endotel fonksiyon bozuklukları EDHF'lere bağlı gerçekleşmektedir. SHR'lerin aortlarında endotel bağımlı gevşeme yanıtları normotansif sıçanlarınkinden daha düşük bulunmuştur. Bunun yanı sıra direnç arterlerindeki gevşeme yanıtları kontrol sıçanlarınkinden farklı değildir (Török 2008, Puzserova vd 2013). Sonuçta

büyük arterlerde, NO salınımındaki azalma ve biyoyararlanımındaki bozukluklar KB artışına neden olabilir.

Diğer bir yaklaşımı inceleyecek olursak; HT oluşunca NO salınımı bozulur yani HT'de azalan NO, HT'nin sonucudur. HT'de damar düz kas hücresi/endotel hücresi oranı düz kas hücresi lehine artış gösterir ve arteriyoller düz kasta hipertrofi gelişir. Bu nedenle hem hipertansif hayvan modellerinde, hem de esansiyel HT'li hastalarda Ach, bradikinin, P maddesi, kalsiyum iyonofor gibi NO salıveren uyarılara karşı yanıt azalmakta, ancak nitrovazodilatörler gibi endotelden bağımsız olarak gevşeme sağlayan ajanlara yanıt değişmemektedir (Radomsky ve Moncada 1993, Schulman vd 2006). HT'de artmış Ang II ve azalmış bradikinin seviyelerinin de NO üretimini ve aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (Radomsky ve Moncada 1993). Öte yandan, HT'yle artan oksidatif stres, NO salınımında azalmaya neden olabilmektedir. HT'de NO üretimindeki bozukluk, genellikle substrat yetersizliğinden çok, sentez bozukluğu ve yıkım fazlalığı yönündedir (Török 2008). HT'de erken evrede gözlenen eNOS ekspresyonu ve NO üretimindeki artışa rağmen NO'ya verilen vazodilatatör yanıtta azalma görülmesi NO'nun O_2^- ile oksidasyonu ve yıkımı ile açıklanmaktadır (Ulker vd 2003).

2.2.3. Nitrik Oksit ve Egzersiz

Egzersizle, iskelet kası ve kardiyak kan akımı metabolik ihtiyaçlara cevaben artarak, egzersizin oluşturduğu hiperemi ve kanın damar duvarına yaptığı sürtünme stresi etkisiyle, NO serbestlenmesini uyarmaktadır. Aynı zamanda nöromusküler kavşaktan salınan Ach de NO'yu artırır, sonuçta mikrovasküler kan akımı artınca büyük damarların çapında sekonder bir artışa neden olmaktadır (Kingwell 2000, Sherman 2000). Sağlıklı bir insanda, otuz dakikalık yoğun bir egzersizden sonra NO'nun parçalanma ürünü olan nitrit ve nitratın hücre içi etkinliklerine aracılık eden cGMP'nin idrardaki yoğunluğunun iki katına çıktığı gösterilmiştir (Boger vd 1996). Bunun yanı sıra, yüzme egzersizi ile, hem kan akımı artışına bağlı damar gevşemesi (akım aracılı gevşeme) hem de NOS'ta artış bildirilmiştir (Varin vd 1999). Çalışmalarda ayrıca egzersize cevaben adenosin, laktik asit, ısı artışı gibi uyarılarla ve dokuların beslenme ihtiyacı artışıyla damarlarda vazodilatasyon ile kan akımı değişiklikleri olduğu bildirilmiş ve ayrıca damar duvarı kayma gerilimi artışının vasküler endotelden NO salınımını tetiklediği ortaya konmuştur (Graham ve Rush 2004, Agarwal vd 2009).

2.3. Karbon Monoksit

CO, karbon içeren maddelerin tam olmayan yanması sonucunda oluşan, renksiz, kokusuz, tatsız, iritan olmayan, atmosferde gaz olarak bulunan, akciğerlerden kolaylıkla absorbe olabilen oldukça stabil bir moleküldür (Omaye 2002, Ryter ve Otterbein 2004). CO, pek çok kardiyovasküler fonksiyonu regüle eden NO'nun analogu anahtar bir sinyal molekülü olarak tanımlanmaktadır (Omaye 2002, Durante vd 2006). İnsan vücudunda günlük CO üretimi yaklaşık saatte 20 μ mol kadardır (Durante vd 2006). Endojen CO'nun, %79'u kemik iliğindeki eritropoez sonucu oluşan eritrositlerde hem katabolizması ile, kalan %21'i ise miyogloblin, katalaz, sitokromlar ve peroksidazlar gibi diğer hemoproteinlerin yıkımıyla oluşmaktadır. Hem katabolizmasının ve endojen CO oluşumunun gerçekleştiği ana organ karaciğer olsa da dalak ve eritropoetik sistemde de endojen CO üretiminin meydana geldiği bilinmektedir (Omaye 2002).

Endojen CO sentezi, enzimatik ve non-enzimatik olarak 2 yolla gerçekleşir;

1)CO'nun enzimatik oluşumu: İnsan kanındaki CO, oksijen taşıyıcısı hemoglobin (Hb)'nin hemoksijenaz (HO) enzimiyle degregasyonundan kaynaklanmaktadır (Ndisang vd 2004). Yaşlı eritrositler doku makrofaj sisteminde yıkıldığında, Hb molekülünün globin kısmı ayrılır ve 'hem' katabolizması gerçekleşir. Hem katabolizmasında hız kısıtlayıcı enzim, mikrozomal 'hem oksijenaz'dır (Omaye 2002). Hemoksijenaz, hemin α -mezo karbon köprülerini kırar ve 'Hem' katabolizması sonucunda CO, demir ve biliverdin oluşur. Reaksiyonda oluşan biliverdin ise bilirubin redüktaz enzimi aracılığıyla bilirubine indirgenir (Gorman vd 2003) (Şekil 2.3). Bu reaksiyonla oluşan CO nedeniyle normal insan kanında %0-5 oranında karboksihemoglobin (COHb) saptanabilir (Sternbach vd 2003). Dışarıdan inhale edilmediği sürece toksik konsantrasyonlara ulaşmaz (Piantadosi 2004).



Şekil 2.3 Hem katabolizması ve endojen CO Üretimi (Omaye 2002).

2-CO'nun non-enzimatik oluşumu: CO'nun çoğunluğu enzimatik hem metabolizmasıyla retiküloendotelial sistemde oluşurken, az bir kısmı da mikrozomal lipidlerin NADPH bağımlı oksidasyonu, mikrozomların Fe^{+3} -askorbat tarafından katalize edilen oksidasyonu, membran lipidlerinin karbon tetraklorid tarafından yıkımı gibi lipid

peroksidasyonu metabolizmaları sırasında oluşmaktadır (Omaye 2002). Nonenzimatik hem metabolizması, 'Hem' molekülünün, porfirin halkaları A ve B arasındaki oksidatif bölünmeyle, metilen köprülerin kırılması ve sonuçta CO açığa çıkmasıyla gerçekleşir (Omaye 2002). NADPH oksidasyonu sonucu sitokrom P450 inaktive edilmekte böylece hem ve apoenzim arasındaki bağın kırılmasına ve hem degregasyonuna neden olmaktadır (Karuzina vd 1999).

2.3.1. Hemoksijenazlar

Hem (Fe- protoporfirin IX) çok yönlü bir molekül olup, merkezinde demir içeren bir tetrapiroldür. Dokuda serbest ve bağlı (hemoprotein) şeklinde bulunur. Hem, oksijen transportu/depolanması, enerji üretimi, detoksifikasyon gibi reaksiyonların oluşmasında görev alan proteinlerin yapısında bulunur ve bu proteinler hemoprotein olarak bilinir (Maines 1997, Siow vd 1999). 1968'de Tenhunen ve arkadaşları hem molekülünden, biliverdin ve bilirubin oluşumlarının HO enzimi ile katalizlendiğini keşfetmişlerdir (Tenhunen vd 1968). HO, hem molekülünün katalizi ile gelişen eritrosit döngüsü, hücre farklılaşması ve demir konsantrasyonunu dengede tutmak gibi bilinen etkilerinin yanısıra reaksiyon ürünleri (demir ve ferritin, biliverdin ve bilirubin, karbon monoksit) üzerinden de anti-oksidan, anti-inflamatuar ve anti-apoptik ve ayrıca sitoprotektif etkilere sahip mikrozomal bir enzimdir (Tenhunen vd 1968, Bauer ve Pannen 2009, Hosick ve Stec 2012). Hem oksijenazın günümüze kadar genetik olarak farklı üç izoformu tanımlanmıştır. Bunlar biyokimyasal veya biyofiziksel stresle indüklenebilen ve en yaygın bulunan formu HO-1, yapısal formu HO-2 ve son zamanlarda klonlanmış olan HO-3'dür (McCoubrey vd 1997, Bauer ve Pannen 2009, Hosick ve Stec 2012). Bu üç izoform da aynı reaksiyonu katalizlemektedir ancak HO-3, HO-2'den daha az fonksiyoneldir ve hem bağımlı genlerin düzenleyicisi olarak görev yapar (McCoubrey vd 1997, Chen vd 2003). Bu izoformların kataliz ettikleri reaksiyonda kullandıkları substrat, kofaktör ve koenzim bakımından HO-1 ve HO-2 arasında fark yoktur. Bu izoformların ekspresyonu, hücre tipleri, doku dağılımları, enzim kinetikleri, *K_m* değerleri, termostabilite ve immünoreaktiviteleri arasında farklılıklar varken aminoasit veya nükleotit dizileri, aminoasit kompozisyonları ve transkript numaraları benzerlik gösterir (Wagener vd 2003). HO-1 aynı zamanda stres proteini (heat shock protein-32) HSP 32 olarak da bilinir (Shibahara vd 1987). HO izoformlarının moleküler ağırlıkları yaklaşık HO-1'in 32 kDa, HO-2'nin 36 kDa ve HO-3'ün 33 kDa'dur (Siow vd 1999).

HO-1: HO-1, eritrositlerin parçalandığı organ olan dalak başta olmak üzere karaciğer, retikuloendotelial hücreler ve kemik iliğinde eksprese edilir (Maines 1997, Ryter vd 2006, Bauer ve Pannen 2009, Leffler vd 2011). Kemik iliğinin hematopoietik kök

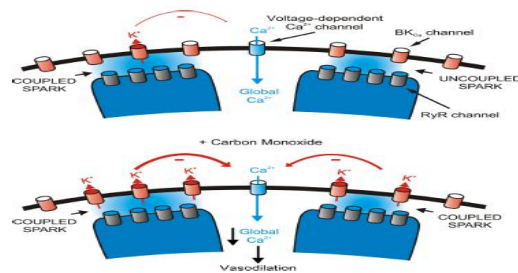
hücrelerinde HO-1'in varlığını gösterilmiş ve bu hücrelerin farklılaşmasına engel olduğu bildirilmiştir (Abraham 1991). HO-1, hem ile birebir olarak bağlanabilme özelliğine sahiptir. HO-1, fizyolojik koşullarda, eritrosit veya hemoglobin metabolizmasıyla direk ilgisi olmayan dokularda, bazal düzeyde eksprese olur fakat kimyasal veya fiziksel uyarana karşı örneğin hemoliz gibi hemoglobin düzeyinin aşırı arttığı durumlarda, böbrek, makrofaj ve karaciğer parankim hücrelerinde hızlı bir şekilde transkripsiyonel aktivasyon gösterir (Pimstone vd 1971). HO-1 geni ROS'ların da dahil olduğu hücrel oksidatif stres oluşturan ajanlar ve kimyasallar tarafından güçlü bir şekilde indüklenir. Bu nedenle strese yanıt veren gen olarak bilinir (Ryter vd 2004). HO-1'in bilinen indükleyicileri arasında hem, hem derivatları, ısı şoku, ağır metaller, duvar kayma kuvveti, NO, NO donörleri, okside lipidler, hiperoksit, lipopolisakaritler, forbol esterleri, sodyum arsenit, AT II, radyasyon, ultraviyole (UVA), hidrojen peroksit (H₂O₂), hipoksi, iskem-reperfüzyon, endotoksin, büyüme faktörleri (trombosit kaynaklı büyüme faktörü, transforming büyüme faktörü β), okadaik asit, metilglioksal, oksidatif stres, sitokinler (IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α , interferon- γ), şiddetli ışık, glikoz yoksunluğu, prostaglandinler sayılabilir (Ryter vd 2006, Bauer ve Pannen 2009, Leffler vd 2011). Egzersizin de HO-1 ekspresyonunu arttırdığına dair bilgiler mevcuttur (Thompson vd 2005). HO-1 eksikliğinde, büyüme geriliği, hemolitik anemi, ciddi ve kalıcı endotel hasarı olduğu bildirilmiştir (Yachie vd 1999).

HO-2: Yapısal hem oksijenaz formu olan HO-2; en fazla testis ve beyinde bulunmakla birlikte damarlar, merkezi sinir sistemi, gastrointestinal sistem, karaciğer ve böbreklerde de yüksek miktarda mevcuttur (Ryter vd 2006, Ryter ve Choi 2009). İnsan HO-1 ve HO-2 enzimleri, % 40 oranında, HO-2 ve HO-3 ise % 90 oranında aminoasit homolojisi göstermektedir (Siow vd 1999, Leffler vd 2011). HO-2, HO-1'den farklı olarak "hem regülatör bölge" olarak bilinen, moleküle ilave hem bağlanma bölgeleri sağlayan, fonksiyonel bir bölge içerir. Bu bölge HO-2'nin hem degregasyonundan farklı olarak, hem'e bağımlı bazı fonksiyonlarının olduğunun göstergesidir. HO-2'deki ek hem merkezi NO ve CO için bağlanma noktası olarak ifade edilmektedir (Ding vd 1999). HO-2 çevresel stresle aktive olmayıp sadece adrenal glukokortikoidlere yanıt verirken, HO-1 kimyasal ve fiziksel bir çok uyarıdan etkilenir, bu fark da enzimlerin promoter bölgelerinde regülatör elementlerin olup-olmamasıyla ilişkilidir (Maines 1997, McCoubrey vd 1997).

HO-3: HO-3 yapısal form olup beyin, karaciğer, böbrek ve dalakta eksprese olan ve hakkında pek fazla bilgi olmayan üçüncü bir izoformdur (McCoubrey vd 1997). HO-3, HO-2 amino asit yapısıyla benzerlik gösterir. HO-3, hem katalizini çok etkin olmayan bir şekilde gerçekleştirir ve hem bağımlı genlerin düzenleyicisi olarak görev yapar (McCoubrey vd 1997, Chen vd 2003).

2.3.2. Karbon Monoksitin Etki Mekanizması

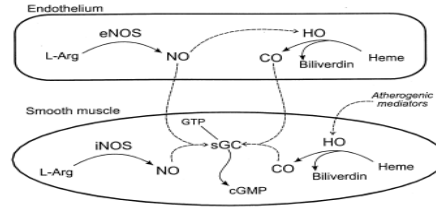
CO'nun fizyolojik işlevlerini temelde iki mekanizma ile açıklamak mümkündür. Birincisi, CO, sGC 'yi aktive ederek cGMP üretimini uyarır. cGMP artışı, vasküler düz kas hücrelerinde voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarını inhibe, Ca^{+2} -ATP-az'ı aktive ve IP_3 'ü inhibe ederek intraselüler Ca^{+2} konsantrasyonunu azaltır ve vazodilatasyona neden olur. sGC/cGMP yolağı, ayrıca nörotransmisyon, bronkodilatasyon, koagülasyon ve düz kas proliferasyonunda da rol alır (Ryter vd 2006, Ryter ve Choi 2009). Bunun yanında CO, cGMP bağımsız mekanizmalarla da vazoregülatör etki göstermektedir. CO, inflamasyon ve strese cevaben, Ca^{+2} ile aktive olan K^+ kanalları (BK_{Ca})'yı aktive ederek Ca^{+2} duyarlılığını azaltır ve vasküler düz kası hiperpolarize ederek gevşemesini sağlar (Bauer ve Pannen 2009, Leffler vd 2011) CO, pek çok damarda vazodilatatör etki yaparken, rat gracilis kası arteri gibi bazı damarlarda kasılma yanıtı oluşturmaktadır (Durante vd 2006) (Şekil 2.4). CO düşük konsantrasyonlarda protektif etkiler (anti-inflamatuar, anti-apoptotik, anti-proliferatif vb.) gösterirken, yüksek konsantrasyonlarda ise hemoglobinle bağlanarak COHb dolayısıyla hipoksemi oluşturur (Ryter ve Choi 2009).



Şekil 2.4 CO'nun arteryel düz kasta BK_{Ca} kanalları aracılığıyla vazodilatasyon etkisi (Leffler vd 2011)

2.3.3. Karbon Monoksit ve Nitrik Oksit Etkileşimi

CO da NO gibi, endotelden salınan vazomotor tonus üzerine etkili bir nörotransmitter olup benzer şekilde damar gevşetici etkilerini aort gibi büyük damarlarda cGMP aracılığıyla yaparken, renal arter veya arteriyoller gibi küçük damarlarda (rezistans damarlarında) ise düz kasta yer alan BK_{Ca} kanalları aracılığıyla gerçekleştirir (Durante vd 2006, Ryter vd 2004, Morse ve Choi 2005). Arteryel düz kas hücrelerinde BK_{Ca} kanalları α ve β subünitlerinden oluşmaktadır. NO ve CO, vasküler düz kas hücrelerindeki bu kanalların farklı subünitlerini etkileyerek, farklı mekanizmalarla aktive etmektedirler (Brenner vd 2000) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 NO ve CO'nun karşılıklı etkileşimi (Siow vd 1999)

CO'nun α -subüniti aktive ederek etki gösterdiği düşünülmektedir. Günümüzde bu mekanizma halen tam olarak anlaşılammıştır. CO fizyolojik koşullar altında doğrudan aminoasite bağlanamaz, bu nedenle CO'nun BK_{Ca} kanalındaki heme bağlanması kabul gören bir açıklamadır (Jaggar vd 2005, Yi vd 2010). Kanalda yer alan hem, CO için reseptör görevi görerek, BK_{Ca} kanalının Ca^{+2} duyarlılığını arttırmaktadır (Jaggar vd 2005). Ayrıca hem CO hem de NO lipofilik özelliğe sahip olup gerektiği zaman düşük konsantrasyonlarda sentez edilerek, hücre membranından kolayca difüze olur ve etkilerini gösterebilirler (Hartsfield 2002). Her ikisi de retrograd habercidirler, cGMP üretimini artırarak etkilerini oluştururlar, hücre dışında reseptöre ihtiyaç duymadan komşu hücreleri etkileyebilirler ve yarı ömürleri oldukça kısadır. Böylelikle her ikisi de hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapar ve vasküler fizyoloji ve patolojide önemli roller üstlenirler (Kim vd 2011). NO'nun sGC'yi direk aktive edebilme yeteneği CO'dan fazladır; yani CO sGC enzimidaki hem grubuna daha düşük afiniteyle bağlanır. Bu nedenle, fizyolojik koşullarda NO, sGC aktivasyonundan sorumlu ana molekül iken, NO biyoyararlanımının azaldığı aterogenez gibi patolojik durumlarda CO'nun vazodilatatör aktivitesi, daha önemli olabilmektedir (Siow vd 1999). CO kararlı bir gaz olup, serbest radikal değildir; NO ise bir serbest radikaldir ve bu nedenle CO, NO'nun oksidatif ve redüktif reaksiyon özelliklerini göstermez. CO ve NO hedef proteinlere farklı şekillerde bağlanırlar, CO sadece Fe^{+3} /Hem molekülüne bağlanırken, NO ise hem Fe^{+2} hem de Fe^{+3} özellik gösteren hemoproteinlere bağlanmaktadır (Hartsfield 2002, Ryter vd 2004).

NO'nun HO-1 ekspresyonuna etkisi genelde artış yönünde iken, HO-2 ekspresyonunda ise azalma şeklinde etki gösterir. Ancak şu unutulmamalıdır, endotel hasarı söz konusu olan vasküler patolojik şartlarda NO, HO-1 ekspresyonunu uyarır. Normal fizyolojik şartlarda bu görülmez (Pae vd 2010). NO, ROS varlığında, HO-1 geninin transkripsiyonel olarak aktivitesini arttırmaktadır (Morse ve Choi 2005). Düşük konsantrasyonda CO, eNOS uyarımı yaparak NO salınımını uyarırken, yüksek düzeydeki CO, eNOS aktivitesini azaltmaktadır. Makrofajlarda HO aktivitesi sonucu oluşan CO, NOS'u inhibe etmektedir (Kim vd 2011). NO, cGMP-bağımlı mekanizmalarla HO-2'nin serebral mikrodamarlarda katalitik aktivitesini artırırken

(Leffler vd 2011), izole kalp ve aortik endotel hücrelerinde de CO üretimini uyarmaktadır (Maulik vd 1996). Böylece, NO direk olarak HO-2'nin katalitik aktivitesini inhibe ederken, indirek olarak cGMP'nin artışı yoluyla aktiviteyi uyarmaktadır (Leffler vd 2011).

2.3.4. Karbon Monoksit ve Hipertansiyon

CO, direk vazodilatör etkisinin yanı sıra miyojenik uyarılara ve konstrüktör agonistlere damar düz kasının duyarlılığını azaltarak anti-hipertansif mekanizmalara katkıda bulunur. CO, periferik etkilerinin yanında merkezi sinir sisteminden sempatik çıkışı azaltarak da kan basıncının düşürülmesinde rol oynamaktadır (Durante vd 2006, Stec vd 2008).

CO'nun NO için bir yedekleme (back up) molekülü olduğu ileri sürülmektedir. HT'de NO sistemi etkilendiğinde, kan basıncı kontrolünün, CO tarafından, HO gen ekspresyonundaki artışla sağlandığı gösterilmiştir (Ushiyama vd 2002). Doku NO seviyesi düşük olduğu zaman CO'nun sGC yolağını aktive ederek ve NO seviyesi yüksek olduğunda ise, CO'nun sGC yolağını inhibe ederek kan basıncını düzenlediği gösterilmiştir (Kajimura vd 2003). CO eksikliği; periferik direnç ve oksidatif stres artışına, vasküler düz kas hücrelerinin apoptozisi ve proliferasyonuna neden olur ve böylece NO ile arasındaki ilişki bozularak kan basıncı yükselebilir (Ndisang vd 2004).

2.3.5. Karbon Monoksit ve Egzersiz

Egzersiz protokollerinden CO/HO sisteminin nasıl etkilendiği çok fazla bilinmemektedir. Daha çok akut fiziksel aktivite sonrası HO enzimidaki değişiklikler incelenmiştir. HO-1 mRNA'sının iskelet kasında 1 saatlik tüketici koşu egzersizi sonrası ve sinir stimülasyonu ile yapılan kas kontraksiyonları sonrası arttığı gösterilmiştir (Essig vd 1997). 8 erkek bireyde yapılan bir çalışmada maksimal oksijen tüketimi (VO_{2max})'nin %70'inde yaptırılan akut egzersizin lenfositlerde HO-1 ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur (Thompson vd 2005). Hildebrandt ve arkadaşları da düşük şiddetli ve uzun süreli egzersizin HO-1 ekspresyonuna neden olduğunu göstermişlerdir (Hildebrandt vd 2003). Uzun süreli düzenli egzersizin HO/CO sistemi üzerindeki etkileri incelendiğinde koşu bandında VO_{2max} 'in %50'sinde günde 1 saat, haftada 3 gün ve 14 haftalık egzersizle sıçanların kalp kaslarında HO-1 gen ekspresyonunun arttığı (Marini vd 2007) ve yine VO_{2max} 'in %50'inde 6 haftalık koşu bandı egzersiziyle aortta HO-1 ve HO-2 proteinlerinin arttığı gösterilmiştir (Sun vd 2008). Egzersizin HO/CO sistemindeki artışa neden olmasıyla ilgili altta yatan mekanizma açık değildir. Egzersizle oksidan

stres artışına bağlı olarak organizmanın bir savunma hattı oluşturup antioksidan gen olarak bilinen HO-1'in lökosit aktivasyonu ile endojen olarak uyarımının artabileceği düşünülmektedir (Peake ve Suzuki 2004). Ayrıca savunma sisteminin önemli bir parçası olarak HO, egzersiz sırasında termal stres ve kas hasarından dolayı vasküler dilatasyon ve doku korumasında rol oynayabilir (Sun vd 2008).

2.4. Egzersiz

Fiziksel aktivite, sportif hareketlerden yaşamsal aktivitelere kadar pek çok hareketi içine alan, kas ve eklem hareketlerinin tümünü içeren geniş bir terimdir. Egzersiz ise; Amerikan Spor Tıp Enstitüsü (ACSM) tarafından, homeostatik durumun bozulmasıyla karakterize, fiziksel iyilik halinin sağlanabilmesi için, vücudun tekrarlı, planlanmış ve yapılanmış fiziksel aktiviteleri şeklinde tanımlanmıştır (Armstrong vd 2006). Egzersiz, fiziksel aktivitenin alt sınıfı olarak kabul edilmektedir. Fiziksel aktivite plansız yapılabilirken, egzersiz müsabaka, fiziksel uygunluk gibi bir amaca yönelik ve uygulanması önceden planlanmış aktiviteler olarak nitelendirilebilir. İnaktivite ile ilişkili hastalık riskleri çocukluk çağına başlamakta ve yaşam boyunca giderek artmaktadır (Booth ve Hargreaves 2011). Egzersiz alışkanlığının pek çok hastalık gelişimi riskini azaltması nedeniyle son yıllarda egzersize karşı büyük bir ilgi gelişmiştir (DeSouza vd 2000).

Egzersiz, endotelial fonksiyonun geliştirilmesi ve sempatik tonusun azaltılması gibi metabolik değişikliklere neden olarak kardiyovasküler risk faktörlerini azaltmaktadır (Villeneuve vd 1998). Egzersiz sırasında atım hacmini, dolayısıyla kalp debisini arttıran önemli faktörlerin başında kasta gelişen vazodilatasyon gelmektedir. Vazodilatasyon sonucu damar direncindeki azalma, çok büyük miktarda kanın venlere akışını sağlayarak kalbe venöz dönüşü ve Frank-Starling mekanizması ile kalp debisini arttırmaktadır. İstirahatte, bazı kas kapillerinde kan akımı çok az veya hiç yokken, yoğun egzersiz sırasında tüm kapiller açılır (Guyton ve Hall 1996).

Egzersizde kasın yaptığı iş, O₂ tüketimini artırır ve O₂ tüketimi de kas kan damarlarında vazodilatasyon sağlayarak, venöz dönüşü ve kalp debisini artırır (Akgün 1996). Egzersiz esnasında yalnızca iskelet kasları değil, kalp de hipertrofiye olabilmektedir. Bunun dışında egzersiz, Hb miktarını artırırken, istirahat kalp atım sayısını (sporcu bradikardisi) ve kan basıncını düşürür. İnsülin direncini azaltır, endotelial hasarı azaltır ve buna bağlı eNOS salınımını artırır, bozulmuş lipoprotein metabolizmasını ve oksidan/antioksidan dengesini düzenleyerek kardiyovasküler risk faktörleri üzerinde olumlu etkiler sağlar ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu

rol oynar (Wannamethee ve Shaper 2001). Egzersiz renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivasyonunu da artırır.

Egzersize yanıt olarak, periferik adaptasyon mekanizmaları sayesinde iskelet kaslarında mitokondri sayısında ve oksidatif enzimlerde, iskelet kasının kapiller dansitesinde, kasın arteriollerden O₂ alım yeteneğinde ve arteriovenöz O₂ gradyentinde artış meydana gelmekte ve bunlara bağlı olarak ATP oluşumunu sağlayan aerobik metabolizma hızlanmaktadır (Levine ve Balady 1993).

Egzersiz esnasında serbest radikal oluşumu da artmaktadır, egzersizle meydana gelen metabolik hız artışı sonucunda iskelet kasında, kalpte ve diğer dokularda oksijen tüketimi belirgin olarak artmaktadır. Ağırılık kaldırma veya yüksek yoğunlukta aerobik egzersizin geçici doku hipoksisi oluşturabildiği ve hidrojen iyonlarını arttırabildiği de ifade edilmektedir. Hidrojen, süperoksit anyonlarla reaksiyona girerek ilave oksijen radikalleri oluşumuna yol açar. Doku hipoksisi, demir ve bakır gibi metallerin serbest kalarak bu metallerin katalizlediği serbest radikal reaksiyonlarının oluşumuna yol açar. Ek olarak, yorucu veya akut tüketici egzersizi takiben hücre hasarlanması nedeniyle nötrofillerin hasarlı iskelet kasına infiltre olarak, güçlü oksidanlar üretebildikleri de ifade edilmiştir (Temiz vd 2000). Öte yandan, egzersiz eğitiminin (uzun süreli egzersiz) pek çok dokuda antioksidan savunma mekanizmalarını da geliştirdiği bilinmektedir (Golbidi ve Laher 2013).

2.4.1. Egzersiz Tipleri ve Egzersize Fizyolojik Yanıtlar

Egzersizler tip, süre ve şiddetlerine göre sınıflandırılmaktadır. Egzersiz tipleri, kullanılan enerji kaynaklarına göre genel olarak aerobik ve anaerobik olarak iki sınıfa ayrılabilir. Bazı spor dallarında enerji kaynaklarından biri diğerine oranla daha baskın olarak kullanılırken, bazılarında ise hem aerobik hem de anaerobik enerji sistemlerinin katkısı önemli düzeydedir (Wilmore ve Costill 1999). Vücudun egzersize fizyolojik cevabı da egzersiz tipine göre değişiklikler göstermektedir.

Aerobik Egzersiz; Aerobik egzersiz aynı zamanda endurans (dayanıklılık) veya kardiyovasküler egzersiz olarak da bilinmekte ve uzun süre iş yapabilme ve eforu devam ettirebilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Bu terim hem kaslar, hem de kardiyovasküler dayanıklılık için kullanılmıştır. Endurans egzersizi, uzamış ve sürekli kasılma şeklinde aktivitelerden oluşan ve düşük dirence karşı yüksek tekrar şeklinde gerçekleştirilen bir egzersiz türüdür (Ghosh vd 2010). Yürüme, jogging, koşma, yüzme, paten, bisiklet, kürek, kayak, aerobik dans ve step tipi egzersizlerdir. Aerobik kapasite oksijen tüketiminin ve kardiyorespiratuvar sistemin fonksiyon kapasitesinin bir ölçümüdür ve VO_{2max} ile değerlendirilmektedir (Kalyon 2000). ACSM'ye göre aerobik

kapasiteyi geliştirmek için; endurans tipi egzersizler tercih edilmeli, egzersiz VO_{2max} 'ın %50-%85 aralığında şiddette, haftada 3 günden fazla sıklıkta ve 20 dakikadan uzun süreli olmalıdır (Rupp 2001). Düzenli bir aerobik egzersizle, serbest radikal oluşumu azaltılarak NO biyoyararlanımı restore edilip, yaşa bağlı gelişebilecek endotel hasarı da önlenmektedir (DeSouza vd 2000, Taddei vd 2000).

2. Anaerobik Egzersiz; Anaerobik egzersiz; direnç egzersizi ve izometrik egzersiz şeklinde de bilinmektedir, bu tip egzersizle oluşan fizyolojik ve biyokimyasal cevaplar, endurans egzersizlerinden farklıdır. Egzersiz süresi uzayıp, yoğunluğu azaldıkça aerobik enerji üretimi artarken, egzersiz süresi kısalıp, yoğunluğu arttıkça anaerobik enerji üretimi artmaktadır (Ghosh vd 2010). Direnç egzersizi hücrenin enerji ihtiyacını oksijenden bağımsız olarak kullandığı, kısa süreli kontraksiyon şeklinde aktiviteleri içerirken, yüksek dirence karşı az tekrar şeklinde yapılır (Ghosh vd 2010). Tenis, ağırlık kaldırma, kısa süreli hızlı koşular, futbol, basketbol, hentbol, sprint ve zıplama gibi aktivitelerde anaerobik süreçler hakimdir (Dunbar 1992).

2.4.2. Egzersiz ve Hipertansiyon

On yılı aşkın bir süredir, kardiyak output ve periferik vasküler direnç artışıyla karakterize kronik dejeneratif hastalıklardan birisi olan HT'nin önlenmesinde ve tedavisinde egzersiz eğitimi non-farmakolojik tedavi olarak yaygın bir şekilde önerilmektedir (Pescatello vd 2004, Blanco-Rivero vd 2013). Egzersizin kan basıncını azaltıcı etkisinin mekanizması net olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte arteriyel kan basıncının temel belirleyicileri, kardiyak output ve total periferik dirençtir ve kronik egzersizin aortik baroreseptör duyarlılığını geliştirerek, total periferik direnci azaltma yoluyla kan basıncını düşürebildiği ileri sürülen mekanizmalardır (Pescatello vd 2004, Cornelissen ve Smart 2013). HT'de egzersizin nörohumoral adaptasyonları incelemek olursa, egzersize bağlı olarak sempatik sinir aktivitesinin ve plazma norepinefrin seviyesinin azaldığı belirtilmiştir (Meredith vd 1991). SHR'lerde kronik egzersizle α -adrenerjik vazokonstrüksiyonun azaldığı bulunmuştur (Chen ve Chiang 1996). Fiziksel aktivite, özellikle esansiyel HT'de artmış sempatik sinir aktivitesinin azalmasına yol açmaktadır (Fagard 2011). Bunun yanı sıra, normotansif bireylerde egzersiz eğitimiyle plazma renin ve AT II seviyelerinde azalma olurken, hipertansif bireylerde azalma gösterilememiştir (Pescatello vd 2004). Aktif bireylerde HT gelişme riskinin sedanter bireylerden daha düşük olduğu gösterilmiştir (Pescatello vd 2004, Fagard 2011).

HT'if hastalara ve risk taşıyan bireylere tedavide esas olarak hafif-orta şiddette ilerleyici, geniş kas gruplarını içeren düzenli, aerobik egzersiz protokolleri önerilmektedir (Whelton vd 2002, Fagard 2011, Blair vd 2012, Campos vd 2013,

Cornelissen ve Smart 2013). Ancak egzersizin antihipertansif etkisini gösterebilmesinde, egzersize başlangıç yaşı, egzersizin tipi, şiddeti, sıklığı, süresi ve ayrıca kişinin egzersizi devam ettirebilme yeteneği önemlidir (Jennings 1997, Graham ve Rush 2004, Cornelissen ve Smart 2013). Gerek sağlıklı, gerek HT'if insan ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda egzersiz eğitiminin; sadece KB'yi düşürmediği, aynı zamanda normal vazomotor tonusun korunması ve kan akışkanlığının sağlanmasına katkıda bulunarak endotel disfonksiyonunu iyileştirdiği ve böylece kayma geriliminde artışa sebep olarak, endotel bağımlı NO aracılı damar gevşemesini arttırdığı gösterilmiştir (Kingwell 2000, Sherman 2000).

Egzersizin oksidatif stresi azaltma yoluyla da vasküler NO biyoyararlanımını arttırdığı düşünülmektedir (Faria vd 2010). HT'yle artan oksidatif strese cevaben NO biyoyararlanımının azalması, HT'if ratlarda mezenterik sempatik bağlantıda norepinefrin salınımının artışına katkıda bulunmaktadır (Campos vd 2013). Dahası, HT'if ratlarda, orta ve yüksek şiddetli aerobik egzersiz eğitimiyle ROS üretiminin azaldığı ve NOS aktivitesinin geliştiği böylece vasküler fonksiyonun iyileştirildiği bildirilmiştir (Yang vd 2011, Roque vd 2013). SHR'lerde 10 hafta orta şiddette koşu bandı egzersiziyle oksidatif stres azalması ve NO biyoyararlanımının artışı sağlanmıştır (Bertagnoli vd 2008). Bu bilgiler ışığında, fizyolojik durumlarda düşük konsantrasyonlardaki ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS)'nin endotele bağlı vazodilatasyona katkıda bulunabildiği söylenebilir (Campos vd 2013).

Egzersiz eğitimi ayrıca iskelet kası, myokardiyum ve koroner arteriyel kan damarlarının ve arteriollerin hem sayısında (anjiojenesis) ve hem de çapında (arteriyogenezis) artış gibi birtakım değişikliklere de neden olmaktadır (Duncker ve Bache 2008). Kısacası, egzersiz eğitimine cevaben vasküler yeniden şekillenme (remodeling) gerçekleşmektedir (Leung vd 2008). Ayrıca Roque ve arkadaşları, HT'if ratlarda 12 haftalık orta şiddette aerobik koşu bandı egzersiziyle koroner damarların ve küçük arterlerin mekanik ve fonksiyonel özelliklerinde gelişme olduğunu bildirmişlerdir (Roque vd 2013). Bu gelişmiş cevapların, NOS ekspresyonunda artış, NO biyoyararlanımında yükselme ve süperoksit seviyelerinde azalmadan kaynaklanmış olduğu düşünülmektedir (Campos vd 2013).

NO'nun vazodilatör fonksiyonu üzerine egzersiz eğitimi süresinin de etkisi vardır. Sıçanlarda kısa süreli egzersiz eğitimi (2-4 hafta), iskelet kası arteriyollerinde endotelial NO sentezi ile birlikte Ach ve L-arjinin'in vazodilatör yanıtını arttırmaktadır. Endotelial NO üretimi artışı, egzersiz eğitimine adaptasyonda başlangıç fazı oluşturmaktadır (Sun vd 1994). Çünkü kısa ve orta (2-4 hafta) sürede egzersiz eğitimindeki NO artışına zıt olarak, daha uzun sürelerde yapılan çalışmalarda NO ile ilişkili endotelial fonksiyonda sürekli bir artış görülmemiştir (Kingwell vd 1997). Ayrıca

egzersize bağılı olarak e-NOS ekspresyonunun başlangıçta arttığı, ancak zamana bağılı olarak değiştiğine dair kanıtlar vardır. Bir hafta boyunca yapılan egzersiz, domuz pulmoner arterinde e-NOS ekspresyonunda ve Ach'e bağılı gevşemede artış ile sonuçlanırken; egzersiz eğitiminin 16. haftasında bu değişiklikler ortadan kalkmıştır (Johnson ve Laughlin 2000).

Özet olarak; kısa ve orta süreli egzersiz eğitimi e-NOS'u, NO'yu ve NO'nun biyoaktivitesini arttırmakta ve egzersizle ilişkili olan strese kısa süreli tampon oluşturmaktadır. Uzun süreli egzersiz ile, en azından periferik dolaşımda artmış NO üretimi ve olasılıkla diğer mediatörler, damarlarda yapısal değişiklikleri uyarmaktadırlar (lümen çapında artış gibi). Bu sayede stres, yapısal olarak normalize edilmekte ve NO aktivitesi tekrar başlangıç seviyelerine dönmektedir. Bu durumda, egzersizde meydana gelen metabolik ihtiyaçların karşılanması kısa vadede NO'nun neden olduğu vazodilatasyonla sağlandığı, uzun vadede ise metabolik enzim değişiklikleri ve damarların yeniden yapılanmasıyla gerçekleştirildiği bildirilmiştir (Brown 2003).

Literatürde uygulanan egzersiz protokollerinin HT'if bireyler/hayvan modellerinde CO düzeyi üzerine herhangi bir etkisi olup olmadığı açıklanamamıştır. CO, K⁺ kanal geçirgenliğini artırarak membranda hiperpolarizasyona yol açar ve böylece vazodilatasyon sağlar. HO/CO sisteminin etkilenmiş olması, hipertansiyon patogeneziye katkıda bulunur (Boissiere vd 2006). Amerikan Spor Tıp Enstitüsü (ACSM), HT'if bireylerde, haftada 3-7 gün sıklıkta, 30-60 dk süreyle ve maksimal kalp hızının %40-50'sinden başlanarak %70-85'lere ilerleyen veya VO_{2max}'ın %55-65'lerinden başlayarak %80'lerine ilerleyen, geniş kas gruplarını içeren düzenli, ritmik veya dinamik, aerobik aktiviteleri önermektedir (Armstrong vd 2006). 2014 yılında Kanada hipertansiyon çalışma grubu da "Hipertansif bireylerde kan basıncını azaltmak ve non-hipertansif bireylerde kan basıncındaki yükselmeleri önlemek için 30-60 dk, orta şiddette, haftada 4-7 gün olacak şekilde dinamik egzersizler (koşu, yürüyüş, bisiklet veya yüzme) günlük yaşama bir rutin olarak eklenmeli bunun yanısıra yüksek şiddetli ve izometrik egzersizlerden kaçınılmalıdır" önerisinde bulunmuştur (Dasgupta vd 2014). Önerilen egzersizlerin sistolik kan basıncında yaklaşık 4-9 mmHg'lık azalmaya yol açtığı bildirilmektedir (Whelton vd 2002, Kelley ve Kelley 2000).

HT'de kısa süreli egzersiz protokollerinin KB'yi düşürücü etkilerini inceleyen çok sayıda çalışma olmasına rağmen, bir yaşam biçimi değişikliği olarak uzun süreli egzersizin HT gelişimindeki olası geciktirici/önleyici etkilerini inceleyen çalışmalar çok sınırlı sayıdadır (Melo vd 2003, Agarwal vd 2009, Moraes-Teixeira vd 2010). Bu konudaki çalışmalar için HT gelişimi ve sistemik etkilerinin insana benzemesi açısından SHR'ler iyi bir model oluşturmaktadır (Lehnen vd 2010). SHR'lerde egzersiz eğitiminin KB artışını önleyici/geciktirici etkilerini inceleyen çalışmalar egzersize başlangıç yaşı,

uygulanan egzersiz protokolleri birbirine benzese de birbiriyle çelişkili sonuçlara sahiptir (Graham ve Rush 2004, Agarwal vd 2009, Moraes-Teixeira 2010).

2.4.3. Yüzme Egzersizi

Yüzme, tüm vücut kaslarının suyun direncine karşı çalıştırılabildiği bir egzersiz türüdür. Yatay düzlemde efor harcadığı için kalbin performansı koşan birisinden farklıdır, kalp ve dolaşım sistemi üzerine olumlu etkileri fazladır ve ayrıca eklemlere binen yük miktarı da azaldığı için pek çok kronik hastalık tedavisinde güvenli bir egzersiz tipidir (Jennings 1997). Koşu gibi, yüzmeye de dereceli olarak başlamak gerekir (Lazar vd 2013). Yüzmeyle aynı zamanda kişinin akciğer kapasitesi de artar böylelikle uzun süre iş yapabilme yeteneği kazandırır (Grasii vd 1992). Yüzme egzersizi, aynı anda çok sayıda kas grubunu çalıştırdığı için HT'if hastalarda kardiyovasküler iyilik halinin sağlanması ve sürdürülmesinde özellikle önerilen bir egzersiz türüdür (Grasii vd 1992, Jennings 1997, Lazar vd 2013). Yüzme egzersizi, çoğunlukla izotonik hareketlerden oluşan, kas-iskelet sistemi yaralanmalarına en az neden olan ve sağlığın korunmasında, hastalıkların tedavisinde en çok önerilen fiziksel aktivitedir (Jennings 1997, Tanaka 2009). Yüzme ile kapasitans venlerinde basınç artışı gerçekleşir; bu da torasik kaviteye kan volümü kaymasına, sonuçta da venöz dönüş artışına neden olur. Böylece ventriküler diyastol sonu basıncı artar (Lazar vd 2013). Bu durum, kardiyak outputta %30-60 oranında artışla sonuçlanır (Lotshaw vd 2007). Diğer aerobik egzersizlere kıyasla yüzme ile daha fazla kardiyak output ve atım hacmi artışı ve daha düşük kalp atım hızı sağlanabilir. Parasempatik tonus artışı da söz konusudur (Lazar vd 2013).

2.4.4. Egzersiz Sonrası Detraining Süreci

Detraining, egzersizi kısmen veya tamamen bırakma süreci olarak ifade edilmektedir (Mujika ve Padilla 2000). Egzersize bireylerin uyumu her zaman istenen seviyede olmamaktadır. Kişi egzersize başlamakta, ancak bunu bir yaşam biçimi haline getirmekte zorlandığı için, egzersizin antihipertansif etkileri gözlenmeye başlamış olsa bile, çeşitli sebeplerle kısa sürede egzersizi bırakmaktadır (detraining). Son yıllarda egzersizle elde edilmiş olan olumlu değişikliklerin egzersizin bırakılmasıyla ne kadar süreyle korunacağı konusundaki çalışmalar hız kazanmıştır.

Carneiro-Junior ve arkadaşları 4 aylık SHR'lere 8 hafta boyunca treadmillde uyguladıkları ilerleyici koşu egzersizini (1. haftada 10 m/dk hız, 15 dk/gün, %0 eğim; 2. haftanın sonunda 14 m/dk hız, 30 dk/gün; 3-8. haftalarda 16 m/dk hız, 1 saat/gün, %0

eğim 5 gün/hafta) takiben 4 haftalık bir detraining periodu geçirmelerini sağlamışlar ve ne uyguladıkları egzersizin ne de detraining periodunun SHR'lerin KB'de istatistiksel olarak önemli bir değişikliğe sebep olmadığını göstermişlerdir. Araştırmacılar 8 haftalık bir egzersiz periodunun SHR'lerde KB'yi düşürmek için yeterli bir süre olmadığını ileri sürmüşlerdir (Carneiro-Junior vd 2010). Öte yandan, Lehnen ve arkadaşları 6 aylık sıçanlara 10 hafta boyunca koşu bandında hafif-orta şiddette ilerleyici egzersiz uygulamış bunu takiben de 1 ve 2 haftalık detrainingin etkisini incelemişlerdir. Uygulanan egzersiz normotansif sıçanların kan basıncında herhangi bir değişikliğe sebep olmazken, SHR'lerde KB'de başlangıç değerlerine göre %19'luk bir azalmaya sebep olmuştur. 1-2 haftalık detraining sonunda KB'de herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Araştırmacılar her 2 detraining periodunun SHR'lerde egzersizle oluşturulan kardiyorespiratuar ve metabolik değişiklikleri geri çevirmek için yeterli olmadığını ifade etmişler, bu durumun da kısmen egzersizin sebep olduğu dinlenim bradikardisinin detraining periodunda gecikmiş kaybına bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir (Lehnen vd 2010). Bu parametrelerdeki değişimin belirli bir zaman periyodu içinde KB'ye yansması kaçınılmaz görünmektedir. Literatürde SHR'lerde i) uzun süreli egzersize cevap olarak KB değişimleri, ii) egzersizin bırakılmasından sonra bu olası değişimlerin zamana bağlı izlediği seyir ve iii) her iki durumdaki olası değişimlerin mekanizması açıklık kazanmamıştır.

2.5. Hipotezler

Çalışmamız aşağıdaki hipotezleri test etmek amacıyla planlanmıştır:

1. Genetik olarak HT'ye yatkın sıçanlarda (SHR) erken yaşta başlanılan, uzun süreli, hafif-orta şiddette geniş kas gruplarını içerecek şekilde uygulanan aerobik egzersiz (yüzme) protokolü HT gelişiminin önlenmesine katkıda bulunur.
2. SHR'lerde 5-10 haftalık detraining süreci egzersizin kan basıncı üzerindeki olumlu etkilerinin - kısmen de olsa- geri dönmesine sebep olacaktır.
3. SHR'lerde gerek egzersizin kan basıncı üzerindeki olumlu etkilerinin ortaya çıkmasında, gerekse detraining periodunda bu olumlu etkilerin geri dönmesinde endotelial fonksiyon - dolayısıyla NO ve/veya CO - rol oynamaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma kapsamında hayvanların bakımı, tartımı, egzersiz programlarının uygulanması ve örnek alma aşamaları için Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma birimi (DEHAB) kullanılmıştır. Kalp hızı ve kan basıncı ölçümü Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmış ve kan Karboksihemoglobin indeksinin ölçümü hizmet alımı ile Düzen laboratuvarından sağlanmıştır. Western Blot analizleri ve serum NO metabolitleri (NOx "nitrit+nitrat") düzeyinin ölçümü Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Doku takipleri ve immünohistokimyasal analizler için Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı laboratuvarları kullanılmıştır. *eNOS*, *iNOS*, *HO-1* ve *HO-2* gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın tüm aşamaları Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (HADEK) yönetmeliğine uygun olarak yapılmıştır. Bu tezin yapılmasına Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu tarafından onay verilmiştir (PAUHADEK-2012/025).

3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi ve Gruplandırılması

Deneylerde 5 haftalık, genç, erişkin erkek 60'ı WKY kontrol ve 55'i SHR olmak üzere toplam 115 adet sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar yurtdışından sağlanmış ve çalışma süresince standart şartlar altında havalandırmalı, sabit ısı odalarda, % 50 ± 5 nem ortamında, 12 saatlik aydınlık-karanlık siklusu bulunan laboratuvar koşullarında barındırılarak, özel hazırlanmış kafeslerde tutulmuş, veteriner hekim kontrolü altında bakılmıştır. Sıçanların beslenmesinde 8 mm'lik standart sıçan pellet yemi kullanılmıştır. İçme suyu olarak musluk suyu verilmiştir. Hayvanların istedikleri kadar yem ve su tüketmelerine izin verilmiştir. Teslim alınmalarını takiben yaklaşık 3 hafta içinde deneysel çalışmalara başlanmıştır. Kontrol sıçanlar ile SHR'lerin aynı yaşlarda (age-matched) olabilmeleri için çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk olarak WKY

kontrol sıçanlar satın alınarak deney protokolüne tabi tutulmuş, onların kesimini takiben SHR'ler satın alınarak aynı işlemler gerçekleştirilmiştir. Sıçanlara 1. gün 10 dakika ile başlamak suretiyle, her gün süresi orantılı olarak arttırılacak şekilde, 5. gün 1 saate çıkararak yüzme egzersizi uygulanmış ve Morris su tankına adapte olmaları sağlanmıştır. Alıştırma sürecinin son gününde yüzmeyi tercih etme düzeylerine göre WKY ve SHR sıçanlar sedanter olanlar ve egzersiz yapanlar şeklinde önce ikiye bölünerek deney grupları oluşturulmuştur. Sonra WKY sedanter ve SHR sedanter sıçanlar zaman 1 ve zaman 2 olarak ayrılırken, WKY egzersiz ve SHR egzersiz sıçanları da egzersiz ve detraining olarak 2 gruba ayrılmışlardır (n=10 ± 3). Egzersiz gruplarına aynı şiddet ve sürede egzersiz uygulanmıştır. 10 haftalık egzersiz sürecini takiben detraining grubundaki sıçanların 5 hafta boyunca kafeslerinde serbestçe dolaşarak yaşamalarına izin verilmiştir. Sedanter gruptakiler de aynı sürede kafeslerinde serbestçe dolaşmışlar ve 10 hafta boyunca haftada bir gün 10 dakika yüzme egzersizi yapmışlardır. Deneyin başlangıcından 10 hafta sonra zaman 1 ve egzersiz gruplarından, 15 hafta sonra da zaman 2 ve egzersiz detraining gruplarından kan örnekleri alınmıştır. Ek olarak küçük gruplarda (n=5-7) 10 haftalık detraining uygulanmıştır (geç detraining). Sedanter sıçanlarda zaman 3 grubu, geç detraining grubuna karşılık oluşturulmuştur (Tablo 3.1).

Sedanter ve egzersiz gruplarında 10 haftalık yüzme egzersizini takiben yaklaşık 72 saat içinde kansızlaştırılarak öldürülmek suretiyle deney sonlandırılmıştır. Uygulanan egzersiz ve detraining protokolü daha ayrıntılı açıklanacaktır.

Tablo 3.1 Deney gruplarının oluşturulması

WKY Sıçanlar (n=60)	WKY Sedanter	Zaman 1 (n=13) (1 tane ex) (Z1K) Zaman 2 (n=12) (Z2K) Zaman 3 (n=5) (Z3K)
	WKY Egzersiz	Egzersiz (n=13) (EK) Detraining (n=12) (EDK) Geç Detraining(n=5) (EGDK)
SHR (n=55)	SHR Sedanter	Zaman 1 (n=10) (Z1SHR) Zaman 2 (n=9) (Z2SHR) Zaman 3 (n=5) (Z3SHR)
	SHR Egzersiz	Egzersiz (n=12) (ESHR) Detraining (n=12) (EDSHR) Geç Detraining (n=7) (EGDSHR)

Deneyin başında (sıçanlar yaklaşık 8 haftalıkken) ve deney süresince her 2 haftada 1 tüm sıçanların ağırlıkları, kalp hızları ve kan basınçları ölçülmüştür.

Enfeksiyonlar NO metabolitleri düzeyini önemli oranda değiştirebileceğinden hayvanlar enfeksiyon yönünden çok sıkı kontrol edilmiştir.

3.2. Yüzme Egzersizi ve Detraining Protokolü

Tüm egzersiz gruplarına DEHAB'da bulunan Morris su tankında yüzme egzersizi yaptırılmıştır. Bunun için; 4m×3m boyutlarında, 150 cm çapında ve 60 cm yüksekliğinde olan dairesel su tankı üstte 15 cm boşluk kalacak şekilde 45 cm derinliğinde su ile doldurulmuştur. Su ısısu tankın dibinde bulunan bir termostat sistemi ile 31.0 ± 2.0 °C'da sabit tutulmuştur (Fabri vd 2010). Egzersiz grubundaki SHR ve WKY sıçanlara Morris su tankında 10 hafta süresince düşük-orta şiddette aerobik bir egzersiz protokolü olan haftada 5 gün günde 1 saat yüzme egzersizi uygulanmıştır. Sedanter gruptaki sıçanlara da 10 hafta boyunca haftada bir gün 10 dakika yüzme egzersizi uygulanmıştır (Silva vd 2011). Yüzme egzersizlerini takiben sıçanlar Morris su tankından çıkarılıp havlu ile kurutulduktan sonra kafeslerine alınmışlardır. Detraining grubundaki sıçanlar 10 haftalık egzersiz döneminden sonra 5 hafta boyunca kafeslerinde sedanter olarak bırakılırken, geç detraining grubundakiler 10 hafta boyunca sedanter bırakılmışlardır. Detraining için sıçanların sedanter gruptakiler gibi aynı koşullar altında kendi kafeslerinde serbestçe dolaşmalarına izin verilmiştir.

3.3. Vücut Ağırlığı Ölçümü

Deneyin başında (sıçanlar yaklaşık 8 haftalıkken) ve deney süresince her 2 haftada 1 tüm sıçanların ağırlıkları ölçülmüştür.

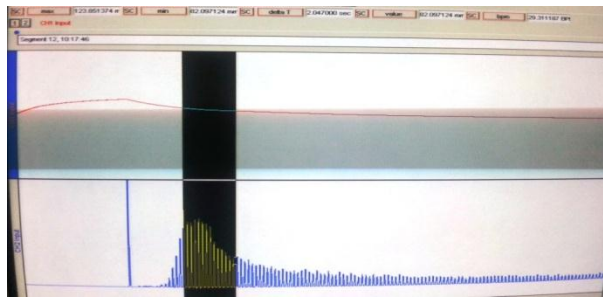
3.4. Kalp Hızı ve Kan Basıncı Ölçümü

Deneye alınan hayvanların kan basınçları non-invazif bir yöntemle (*tail cuff*) kuyruk arterlerinden ölçülmüştür (Garcia-Pinto vd 2011). Kuyruğa takılan halka şeklindeki basınç probuyla alınan sinyaller Commat may nibp 200-A ünitesi aracılığıyla bilgisayara aktarılmış ve ölçümler Labtutor paket programıyla çizdirilen basınç traseleri üzerinden yapılmıştır. Ölçümler sessiz ve sakin laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiştir. Hayvanların laboratuvarımıza ulaşmalarını takiben 3. haftada (sıçanlar yaklaşık 8 haftalık iken) deney öncesi bazal değerleri saptandıktan sonra kalp

hızı ve kan basıncı takibine 2 haftada 1 defa yapılan ölçümlerle deney protokolü sonuna kadar devam edilmiştir (MacDonnell vd 2005).

Kan basıncı ölçümü sırasında kuyruk arterlerindeki kan akımının kısa bir süre kesilmesi halka şeklindeki, havayla şişirilebilen bir manşet (*cuff*) ile sağlanmıştır. Kuyruk dibine, basınç probunun önüne konulan ve belirlenebilen bir basınç sağlayacak düzeyde şişen manşetin, yavaş yavaş otomatik olarak söndürülmesiyle kan akımı tekrar sağlanmış ve arterdeki pulsasyonların proba algılanmasına izin verilmiştir. Kan akımı kesildiğinde, bilgisayarda kaydedilen ölçüm trasesinde basınç pulsasyonları görülmemiştir. Manşet içindeki basınç sistolik basınç düzeyine geldiğinde artan amplitütte basınç pulsasyonları görülmeye başlanmıştır. Pulsasyonların başladığı nokta sistolik kan basıncını gösteren değerdir ve trase üzerinde manuel olarak işaretlenmiştir. Bu yöntemle kan basıncının ölçüm prensibi insandaki kan basıncını ön kol arterinden ölçme yöntemiyle benzerdir.

Kalp hızı ve kan basıncı ölçümü anestezi altında olmaksızın gerçekleştirilmiştir. Ölçüm sırasında sıçanların hareketsiz kalmalarını sağlamak için şeffaf plastikten yapılmış, nefes almalarını engellemeyen, boyutları hayvan büyüklüğüne uygun, içerisindeki sıcaklığı 34°C'da sabit tutan küçük kafesler (*animal holder*) kullanılmıştır. Her bir denek için 3 adet düzgün kalp hızı ve kan basıncı ölçüm değerleri bilgisayara kaydedilmiş, ortalamaları alınmıştır (Şekil 3.1). Deney süresince prosedürü engelleyen hareketler yapan hayvanlar bir süre kafes dışında bekletilerek sakinleşmeleri sağlanmış ve ölçüm tekrarlanmıştır. Haftanın 5 günü egzersiz yapan hayvanların kan basınçları son egzersizden ortalama 18 saat sonra ve daima o günkü yüzme egzersizlerinden önce kayıt edilmiştir.



Şekil 3.1 Kalp hızı ve kan basıncının hesaplanmasında kullanılan trase

3.5. Deneyin Sonlandırılması, Kan ve Damar Örneklerinin Alınması

Z1K, EK, Z1SHR, ESHR grubuna ait sıçanlar 10. hafta, detraining gruplarındaki (Z2K, EDK, Z2SHR, EDSHR) hayvanlar 15. haftanın sonunda, geç detraining gruplarındakiler (Z3K, EGDK, Z3SHR, EGDSHR) ise 20. haftanın sonunda Ketamin-HCl/Xylazine-HCl (75 mg/kg-10 mg/kg) anestezisi altında abdominal aortlarından 10 ml'lik steril enjektörle kan almak suretiyle kansızlaştırılarak öldürülmüşlerdir. Hayvanların tüm aortları izole edilerek çıkarılmış ve 3 parçaya ayrılmıştır. Modifiye krebs solüsyonuna alınan torakal ve orta parça etraflarındaki bağ ve yağ dokudan ayrılmıştır. Torakal parça Western Blot analizi için kullanılmış, orta aort parça ise mRNA ekspresyon analizlerinde kullanılmak üzere RNAlater solüsyonu (Life Tech., USA) içeren cryotüpe aktarılmış ve her iki parça da hızlıca azot tankında dondurularak, daha sonra analiz edilmek üzere -80 °C'de saklanmıştır. İmmünohistokimyasal analiz için abdominal aort parçası nötral formaline alınmıştır.

Hayvanların her iki bacağındaki tüylü deri kesilip dikkatlice soyulduktan sonra iki bacadaki gastrocnemius kasları damarların zedelenmeyeceği şekilde çıkarılmıştır. Buzda bekletilen modifiye Krebs solüsyonuyla yıkanan kas örneklerinden direnç damarının izolasyonu için mikrodiseksiyon aşamasına geçilmiştir. Diseksiyon mikroskobu kullanılarak (Zeiss Stemi 2000C), uygun büyütme derecesinde arter-ven ayırımı yapıldıktan sonra gastrocnemius kasını besleyen iletim tipi arterin dallarından ayrılan direnç arteri belirlenmiştir. Dallanma gözlenmeyen bölgesinden 2 mm'yi geçmeyen boydaki damar parçası izole edilerek etrafındaki bağ ve yağ dokular uzaklaştırılmıştır. Cryotüp içine alınan damar örnekleri hızlıca azot tankında dondurulmuş ve daha sonra analiz edilmek üzere -80 °C'de saklanmıştır. Her grup denek sayısı n=5-6 olacak şekilde belirlenmiştir.

Serum NO metabolitleri (NOx "nitrit+nitrat") düzeyi ölçümü için alınan kan örnekleri cam tüplere (serum tüpleri) aktarılmıştır. 7660 rpm'de 5 dakika santrifüj edilen kan örneklerinden serumlar ayrılarak -80 °C'de saklanmıştır. Kan karboksihemoglobin (COHb) indeksinin ölçülmesi için alınan kan örnekleri ise heparinize (15 IU/ml) enjektörde havası iyice çıkarılarak kuru buz içerisinde hizmet alımı yapılan laboratuvara aynı gün gönderilmiştir.

3.6. Damar Dokularından Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

3.6.1. Damar Dokularından Total RNA İzolasyonu

Damar doku örneklerinden total RNA izolasyonu ticari bir kit (RNeasy Mini kit, Cat No 74104, Qiagen) yardımı ile yapılmıştır. Total RNA izolasyonu için uygulanan protokolda temel basamaklar aşağıda verilmiştir:

- 1- Doku örnekleri (her biri en fazla 30 mg) alındıktan hemen sonra, kitle birlikte sağlanan 600 µl “RNeasy lizis tamponunda (RLT) (β -merkaptoetanol eklenmiş 1:10)” doku homojenizatörü (rotor-stator homogenizer Heidolph, RZR 2021) yardımı ile maksimum hızda 90-120 sn lize ve homojenize edilerek, steril, RNaz-free ependorf tüpüne aktarılmıştır.
- 2- Homojenize edilen doku örneklerinin üzerine 590 µl RNaz-free su ve 10 µl proteinaz K ilave edilerek, 55°C’de 10 dk inkübe edilmiştir.
- 3- Ependorf tüpündeki bu karışım 14.000 rpm’de 3 dk santrifüj edilmiş üsteki sıvı pipetle alınıp, yeni bir steril ependorf tüpe aktarılmıştır.
- 4- Bu tüpe, toplam hacim kadar %70’lik etanol ilave edilmiş ve mikropipet yardımı ile homojenize edilmiştir.
- 5- Karışımdan 700 µl alınmış ve 2 ml’lik toplama tüpüne yerleştirilmiş olan spin kolona aktarılarak ve 11.000 rpm’de 15 sn santrifüj edildikten sonra toplama tüpü değiştirilmiştir.
- 6- Spin kolona 350 µl “Buffer RW1” ilave edilmiş ve 11.000 rpm’de 15 sn santrifüj edildikten sonra toplama tüpü yeniden değiştirilmiştir.
- 7- Her bir örnek için 80 µl “DNase I karışımı” (Her bir örnek için 70 µl “RDD Buffer” ve 10 µl “DNase I stock solüsyonu” eklenerek 80 µl Dnase I karışımı elde edilmiştir) tüm kolonu kaplayacak şekilde spin kolona eklenmiş ve oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilmiştir.
- 8- Her bir spin kolona 350 µl “Buffer RW1” ilave edilmiş; 11.000 rpm’de 15 sn santrifüj edildikten sonra, toplama tüpü değiştirilmiştir.
- 9- Her bir spin kolona 500 µl “RPE buffer” ilave edilmesini takiben 11.000 rpm’de 15 sn santrifüj edildikten sonra, toplama tüpü değiştirilmiştir.
- 10- Her bir spin kolona 500 µl “RPE buffer” tekrar eklenmiş ve 11.000 rpm de 2 dk santrifüj edilmiş, toplama tüpü yeniden değiştirilmiştir.
- 11- Alternatif olarak, her spin kolon tekrar 14.000 rpm’de 1 dk santrifüj edilmiştir. Her bir spin kolon steril, RNase-free 1.5 ml’lik ependorf tüpüne yerleştirilmiş ve üzerine 50 µl RNease-free su eklenerek, 11.000 rpm’de 1 dk santrifüj edilmiştir.
- 12- Elde edilen total RNA örnekleri, aynı gün cDNA sentezinde kullanılmıştır.

3.6.2. Total RNA Konsantrasyonlarının ve Saflık Derecelerinin Belirlenmesi

RNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflıkları, spektrofotometrik yöntemle (Biophotometer, Eppendorf) belirlenmiştir. Ölçümler sırasında disposable spektrofotometre küvetleri (Eppendorf) kullanılmıştır. Konsantrasyon ölçümü yapılmadan önce, total RNA örnekleri 0.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerinde 1/50 oranında sulandırılmışlardır. Daha sonra, RNA örnekleri, spektrofotometre küvetlerine aktarılmıştır ve spektrofotometrenin ssRNA programında konsantrasyon ve saflık dereceleri belirlenmiştir. Tüm örneklerin "Konsantrasyon, A260, A280, A260/280 oranı" değerleri kaydedilmiş ve her bir örneğin "stok konsantrasyonları" hesaplanmıştır.

3.6.3. Total RNA Örneklerinden cDNA Sentezi

İzole edilen total RNA örneklerinden cDNA sentezi, ticari bir kit (QuantiTect Reverse Transcription Kit, Qiagen) yardımı ile gerçekleştirilmiştir. cDNA sentezi için uygulanan protokolda temel basamaklar aşağıda özetlenmiştir.

1. Genomik DNA'nın eliminasyonu amacıyla, her örnek için aşağıdaki reaksiyon karışımı hazırlanmıştır:

Komponent	Miktar
gDNA wipeout tamponu	2 µl
Template RNA	1 µg (her örnek için stok konsantrasyonu hesaplandı)
RNase-free su	x µl (her örnek için hesaplandı)
Toplam hacim	14 µl

2. Hazırlanan reaksiyon karışımı 42 °C'de 2 dk inkübe edilmiştir.
3. Reverse transkripsiyon amacıyla, her örnek için aşağıdaki reaksiyon karışımı hazırlanmıştır.

Komponent	Miktar
Reverse transkriptaz (RT)	1 µl
RT tamponu	4 µl
RT primer karışımı	1 µl
Template RNA	14 µl (bir önceki basamaktan elde edilen)
Toplam hacim	20 µl

4. Hazırlanan reaksiyon karışımı 42 °C'de 15 dk inkübe edilmiştir.
5. Reverse transkriptazı inaktive etmek için, örnekler 95 °C'de 3 dk inkübe edilmiştir.
6. Bu aşamaların sonunda 20 µl miktarında cDNA elde edilmiştir.
7. Örnekler, gerçek-zamanlı PCR ile analiz edilmek üzere -20 °C'de saklanmıştır.

3.6.4. Gerçek-zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real-time PCR) Analizleri

Hedef genler ve β -aktin (referans gen) için relatif kantitasyon analizi, gerçek-zamanlı PCR sistemi (LightCycler 480 Gerçek-zamanlı PCR Sistemi, Roche Diagnostics) kullanılarak yapılmıştır. Hedef genlerin mRNA düzeyinde ekspresyon analizi için kullanılan primer setlerinin dizaynı yapılmış ve sentezletilmiştir. Hedef genlerin mRNA düzeyinde ekspresyon analizi için kullanılacak problemler, “Universal Probe Library (UPL)”den (Roche) seçilmiştir. Referans gen için, hem özgün probu hem de primer setini içeren “Mouse β -aktin Single Assay” (Assay ID: 500152, Roche) kullanılmıştır. Gerçek-zamanlı kantitatif PCR analizinde kullanılan hedef ve referans genlere özgün primer setlerinin dizilimleri ve prob numaraları Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2 NOS 3 (*eNOS*), NOS 2 (*iNOS*), HO-1, HO-2 ve β -aktin mRNA ekspresyon analizinde kullanılan özgün primerlerin dizilimleri (5’→3’) ve UPL prob numaraları

Gen	Primer-prob seti	Kaynak
eNOS		
Primer seti	CCT GTG CAT GGA TGA ATA CGA (Forward) TGC CAA ATG TGC TGG TCA (Reverse)	Sasaki vd 2002
UPL numarası	Probe no: 90013502	
iNOS		
Primer seti	GTCTTCCACCAGGAGATGTTC (Forward) CTCCTGCCCACTGAGTTCGTC (Reverse)	Wang vd 2003
UPL numarası	Probe no: 90013504	
HO-1		
Primer seti	TGG GCT CCC TAT ACC AGA TC (Forward) ATG CCCTC TTC CAG TGG GG (Reverse)	Abrahám vd 2012
UPL numarası	Probe no:90013503	
HO-2		
Primer seti	TTT TAA GCT TGC CAC CAC TG (Forward) CCT GGT TCT CCC AGT CTT CA (Reverse)	Abrahám vd 2012
UPL numarası	Probe no:90013523	
β-aktin		
Single assay	ID: 500 153 (Cat. REF. 05 532 957 001)	Ye vd 2012

Tüm hedef genlerin mRNA ekspresyon düzeylerinin relatif olarak belirlenmesinde, referans gen olarak β -aktin kullanılmıştır. Hedef genler olan **eNOS**, **iNOS**, **HO-1** ve **HO-2’nin** mRNA düzeyinde ekspresyonlarını relatif olarak kantite etmek için, sırasıyla Tablo 3.3 ve 3.4’te belirtildiği şekilde optimize edilen gerçek-zamanlı PCR karışımı ve protokolü uygulanmıştır. Her bir hedef gene ait PCR protokolü aynı zamanda referans gen için de uygulanmıştır.

Tablo 3.3 *eNOS*, *iNOS*, *HO-1*, *HO-2* ve *β -aktin* genlerinin mRNA düzeyinde kantitasyonu amacı ile hazırlanan reaksiyon karışımı

<i>eNOS</i>, <i>iNOS</i>, <i>HO-1</i> ve <i>HO-2</i>			
	İçerik	Hacim	Final konsantrasyon
	Forward primer	0.5 μ l	0.5 μ M
	Reverse primer	0.5 μ l	0.5 μ M
	UPL probu	0.2 μ l	0.2 μ M
	Master karışımı*	10 μ l	2x
	PCR-grade su	4.8 μ l	-
	cDNA örneği	4 μ l	-
<i>β-Aktin</i>	<i>Single assay</i>	1 μ l	-
	Master karışımı*	10 μ l	2x
	PCR-grade su	5 μ l	-
	cDNA örneği	4 μ l	-

*: Master karışımı olarak, "LightCycler 480 Probes Master" kiti kullanıldı.

Tablo 3.4 *eNOS*, *iNOS*, *HO-1*, *HO-2* ve *β -aktin* genlerinin mRNA düzeyinde kantitasyonu amacı ile uygulanan gerçek-zamanlı PCR protokolü*

Analiz Modu	Döngü	Segment	Isı	Süre	Isı artışı	Kazanım Modu
Pre-inkübasyon	1		95°C	10 dk	4.4	-
Amplifikasyon	45	Denatürasyon	95°C	10 sn	4.4	-
		Annealing	60°C	30 sn	2.2	-
		Ekstensiyon	72°C	1 sn	4.4	Tek okuma
Soğutma	1		40°C	30 sn	2.2	-

*: Gerçek-zamanlı PCR Protokolü; **Pre-inkübasyon**: Enzim aktivasyonu ve kalıp cDNA'nın denatürasyonu, **Amplifikasyon**: Hedef bölgenin primerler yardımı ile çoğaltılması ve özgün problemler yardımı ile ürünün belirlenmesi, **Soğutma**: Sistemde yer alan rotorun soğutulması basamaklarını içermektedir.

Optimize edilen protokollerle örneklerin gerçek-zamanlı PCR aşamaları tamamlanmış ve her bir hedef genin ekspresyon düzeyi referans gen olarak kullanılan *β -aktin*'e göre relatif olarak kantitate edilmiştir. Bir başka ifade ile, her bir örneğin hedef gene ait mRNA ekspresyon düzeyi, aynı örneğin referans gen olan *β -aktin* (aynı zamanda, relatif kantitasyonda eksternal standart) ekspresyon düzeyine göre gerçek-zamanlı PCR sisteminde varolan yazılım programı (LightCycler Relatif Kantitasyon Yazılım Programı) kullanılarak hesaplanmıştır ve relatif olarak kantite edilmiştir. Eksternal standart, gerçek-zamanlı PCR ile kantitasyon sırasında hedef ve referans cDNA miktarları arasındaki farklılığı, örnek yüklemedeki varyasyonları ve PCR inhibitörlerinin etkisini dengelemede yardımcı olması amacı ile seçilmiştir.

3.7. İmmünohistokimyasal Ölçüm

3.7.1. Doku Takip Yöntemi:

- a. Alınan dokular nötral formaldehitde 72 saat bekletilmiştir.
- b. Akarsuda 30 dakika yıkanmıştır.
- c. %70'lik etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.
- d. %80'lik etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.
- e. %90'lık etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.
- f. %100'lük etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.
- g. Ksilende 2 kez 1'er saat süreyle bekletilmiştir.
- h. Parafinde 2 kez 1'er saat süreyle bekletilmiştir.
- i. Dokulara parafine gömme ve etiketlenme işlemi yapılmıştır.

3.7.2. İmmünohistokimyasal Boyama

Parafin kesitler (5 µm) ksilende deparafinize edildikten ve dereceli alkol serilerinde rehidrate edildikten sonra immünohistokimyasal olarak boyanmıştır.

Doku takip yöntemi tamamlanan bloklardan, 5 µ' luk kesitler alınıp, benmariye bırakılmıştır. Ardından uygulanan protokol sırası aşağıdaki gibidir:

İmmünohistokimyasal boyama yöntemi:

- a. Kesitler, benmariden lamlara alınıp lam taşıma sepetine yerleştirilmiştir.
- b. Lam taşıma sepeti etüvde 60 °C'de 1 saat bekletilmiştir.
- c. Ksilende, deparafinizasyon işlemi için 1 saat bekletilmiştir.
- d. Kesitler sırasıyla %100, %96, %70, %50'lik etil alkol serilerinde 2'şer dakika bekletilmiştir.
- e. Alkolden çıkan preparatlar akarsuda yıkanarak 10 dakika Phosphate-Buffered-Saline (PBS)'de bırakılmıştır. Bu aşamada kesitler PAP pen kullanılarak işaretlenmiştir.
- f. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesi, % 30'luk H₂O₂: Metanol (1:9) karışımı ile 30 dakikalık uygulamayla ortadan kaldırılmıştır.
- g. PBS ile yıkanan kesitler, üzerlerine ilave edilen serum bloklama solüsyonu (Invitrogen, Lot: 1325114A, Ref: 859043) ile 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- h. Kesitler üzerine uygun primer antikolar (eNOS, iNOS, HO-1, HO-2) ilave edilerek 1 gece +4°C'de bekletilmiştir. Bu çalışmada kullanılan primer antikolar ve dilüsyonları şu şekildedir: eNOS (1:100, Santa Cruz Biotechnology, Lot:

#K1313), iNOS (1:100, Santa Cruz Biotechnology, Lot: #L1912), HO-1 (1:100, Santa Cruz Biotechnology, Lot: #C2813); HO-2 (1:100, Santa Cruz Biotechnology, Lot: #G1211). Bütün primer antikorlar PBS ile dilüe edilmiştir.

- i. Kesitler, PBS ile yıkandıktan sonra primer antikorlarla reaksiyon veren, biotinlenmiş afiniteye sahip sekonder antikorlarla 20 dakika muamele edilmiştir.
- j. Tekrar PBS ile yıkanan kesitlere, biotinlenmiş-sekonder antikorlara kolayca bağlanabilen horseradish peroksidaz konjugatı streptavidin (HRP-SA) 10 dakika süreyle uygulanmıştır.
- k. Kesitler son kez PBS ile yıkandıktan sonra kromojen boyası DAB (3,3'diaminobenzidine) ile muamele edilmiş ve antijenin lokalizasyonunun daha iyi gözlenmesi için hematoksilen (Merk Harris') ile zıt boyama yapılmıştır.
- l. Kesitler akarsuda yıkanmış ve sırasıyla %50, %70, %96, %100'lük etil alkol serilerinde 2'şer dakika bekletilmiştir.
- m. Dokuların üzeri entellan ile kapatılmıştır.
- n. Kesitler Olympus BX51 mikroskobuyla resimlenerek incelenmiştir.

Boyanmanın derecesi şu şekilde sınıflandırılmıştır: (+++) kuvvetli pozitif, (++) orta derecede pozitif, (+) zayıf pozitif, (-) negatif.

H skoru = $\sum i \cdot P_i$ formülüyle (İ: Boyanma derecesi, P_i : hücre yüzdesi) boyanma derecesi ve boyanan hücreler hesaplanmıştır. Alınan dokularda damarın bütün katmanlarında (intima, media ve adventisya) hücre sayımı yapılmıştır.

3.8. Western Blot Tekniği ile Aort ve Gastrocnemius Kası Direnç Arterinden iNOS, eNOS, HO-1 ve HO-2 Protein Miktarı Tayini

Damarlar proteaz inhibitör kokteyli (Thermo Scientific Lot PD 197970) içeren lizis tamponu (Radioimmunopresipitasyon -RIPA), ile homojenize edilmiş ve 14000 rpm'de, +4°C'de 20 dk santrifüj edilerek süpernantantlar elde edilmiştir. Süpernantantların protein düzeyleri Bradford metodu ile kit (BioRad, Quick Start Bradford, Cat #500-0205) aracılığıyla belirlenmiştir. Doku proteinleri ve yükleme kontrol proteini (alfa-tubulin, sc-31779, Santa Cruz) % 7,5'lük (eNOS ve iNOS proteinleri için) - 10'lük (HO-1 ve HO-2 proteinleri için) poliakrilamid jellere yüklenerek (her bir kuyucuğa görüntülecek protein bağlı olarak 30-50µg/20 µl şeklinde) elektroforetik olarak ayrıştırılmıştır. Ayrışmadan sonra proteinler yarı-kuru blotter ile jelden *polyvinylidene difluoride* (PVDF) membrana (BioRad Immun-Blot PVDF membrane) transfer edilmiştir. Transferi takiben PVDF membranlar % 0.1 oranında Tween 20 ve % 5 oranında süt tozu içeren fosfat tamponu

(TBS (*Tris Buffered Saline*)-T) içerisinde oda ısısında 1 saat açılı çalkalayıcı ile (80 rpm'de) inkübe edilmiştir. Daha sonra membranlar süt tozsuz yıkama solüsyonu (TBS-T) ile 5 dk şiddetli bir şekilde çalkalanarak (120 rpm'de) yıkanmıştır. Yıkama solüsyonunun uzaklaştırılmasını takiben membranlar *eNOS* proteini için 1: 750 oranında (sc-654, Santa Cruz), *HO-2* proteini için ise 1:200 oranında (sc-7697, Santa Cruz) dilüe edilmiş olan primer antikor solüsyonuyla +4 °C'de gece boyu yatay çalkalayıcıda inkübasyona bırakılmıştır. *HO-1* (sc-1796, Santa Cruz) ve *iNOS* (sc-649, Santa Cruz) için bu proteinlere karşı geliştirilmiş primer antikorların uygun dilusyonları ile aynı işlemlerin uygulanması planlanmıştır. Primer antikorla inkübasyonu takiben membran yıkama solüsyonu (TBST) ile 5 kez 5'er dk şiddetli bir şekilde çalkalanarak (120 rpm'de) yıkanmış ve yıkama solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra oda ısısında yatay çalkalayıcıda 1 saat süre ile uygun dilusyonlarda sekonder antikorlar (*eNOS* ve *iNOS* için sc-2004, Santa Cruz, *HO-1* ve *HO-2* için sc-2020 Santa Cruz,) ile inkübe edilmiştir. Sekonder antikor ile inkübasyonu takiben, tekrar TBS-T ile 5 kez 5'er dakika şiddetli bir şekilde çalkalanarak (120 rpm'de) yıkandıktan sonra Western Blot bantları görüntülenmeye çalışılmış, tarayıcıdan geçirilerek *NOS 3 (eNOS)*, *NOS 2 (iNOS)*, *HO-2*, ve *HO-1'e* ait bant yoğunluklarının, Adobe Photoshop programı ile analiz edilerek sayısal hale getirilmesi amaçlanmıştır. Yükleme kontrol proteinine (alfa-tubulin) ait bant yoğunluklarının ise membran striping'i yapıldıktan sonra bu proteine uygun primer (sc-31779, Santa Cruz) ve sekonder (sc-2020, Santa Cruz) antikorlar kullanılarak yukarıda anlatılan yöntemle göre belirlenmesi planlanmıştır.

3.9. Serum Nitrik Oksit Metabolitleri (NOx "nitrit+nitrat") Düzeyi Ölçümü

-80 °C'da dondurulan serumlardan Ticari bir kit (Nitric Oxide Colorimetric Assay, Roche Diagnostic, Germany) aracılığıyla ölçülmüştür.

3.10. Kan Karboksihemoglobin İndeksinin Belirlenmesi

Kan karboksihemoglobin (COHb) indeksi hizmet alımı yapılarak İstanbul Düzen Laboratuvar'ında Cobas b221 system (Roche Diagnostic) cihazı ile değerlendirilmiştir

3.11. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 21.0 paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir. İmmünohistokimyasal analizler için (+) boyanan hücrelerin yüzdesi alınarak H skoru hesaplaması kullanılmıştır. H skoru değeri herbir kategoriden boyanan hücrelerin toplamı $H \text{ skoru} = \sum i \cdot P_i$ formülü kullanılarak belirlenmiştir. İ: Boyanma derecesi, P_i ise hücre yüzdesini göstermektedir. Her bir preparat 200X büyütmede beş farklı alan sayılarak değerlendirilmiştir. Ölçümler arasındaki bağımsız grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis Varyans Analizi ve takiben Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Bağımlı grup karşılaştırmalarında Friedman Testi ve Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ değerleri önemli kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

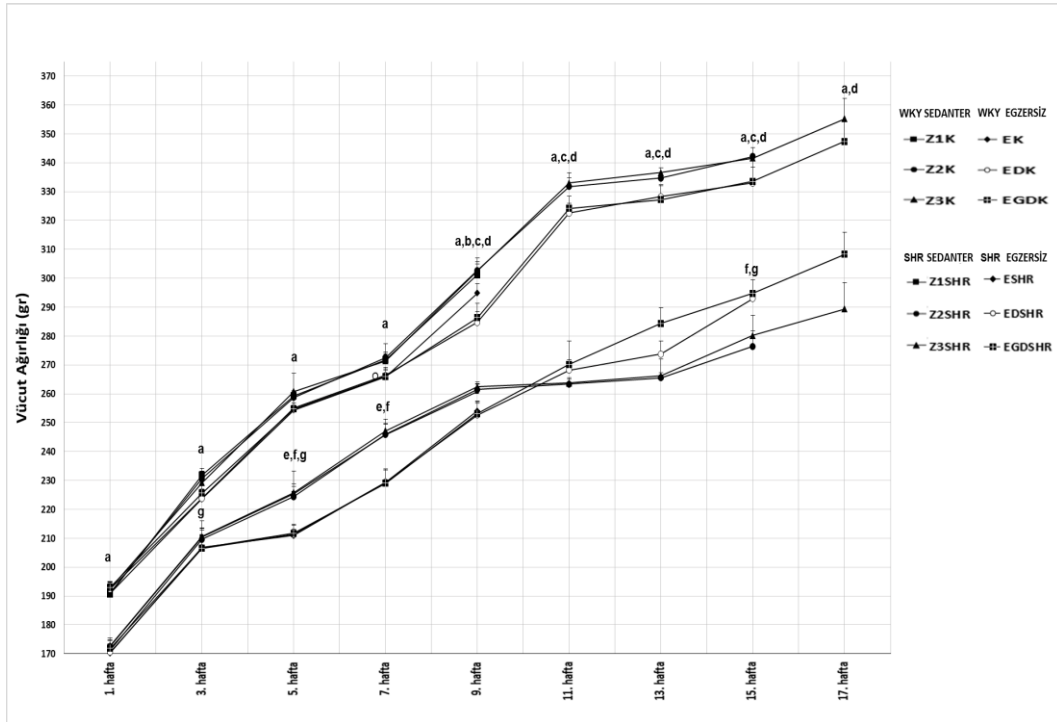
4.1. Vücut Ağırlığı Ölçümleri

Çalışmada kullanılan sıçanların vücut ağırlığı ölçümleri Şekil 4.1'de sunulmuştur. SHR'lerin 1. haftada (sıçanlar yaklaşık 8 haftalıkken) ölçülen vücut ağırlıkları kendi kontrollerine göre (Z1SHR'nin Z1K'ya, Z2SHR'nin Z2K'ya, Z3SHR'nin Z3K'ya, ESHR'nin EK'ya, EDSHR'nin EDK'ya, EGDSHR'nin EGDK'ya göre) istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,0001$). Bu fark deney sonuna kadar devam etmiştir. Kontrol sıçanlarda egzersizin vücut ağırlığını düşürücü etkisi 9. haftada gözlenmeye başlanmış (EK ile Z1K, EDK ile Z2K, EGDK ile Z3K arası fark), farklar deney sonuna kadar korunmuştur ($p<0,0001$).

Hipertansif sıçanlarda ise, egzersizin kilo verdirici etkisi 3. haftada gözlenmeye başlanmıştır. 3.ve 5. haftalarda, EGDSHR grubu sıçanların vücut ağırlıkları Z3SHR'ye göre, 5. ve 7. haftalarda ise ESHR ve EDSHR gruplarındaki sıçanların kiloları sırasıyla Z1SHR ve Z2SHR'ye göre istatistiksel olarak önemli oranda düşük bulunmuştur ($p<0,0001$). SHR'lerde detraining sürecinin ilk ölçümlerinde (11. hafta) egzersizin vücut ağırlığını azaltıcı etkisinin ortadan kalktığı gözlenmiştir. İlginç olarak, egzersizi bırakan hipertansif sıçanlar hızla kilo almaya başlamış ve 15. haftada egzersiz yapmayan hipertansif sıçanlara göre daha ağır hale gelmişlerdir ($p<0,0001$).

4.2. Kalp Hızı ve Kan Basıncı Ölçümleri

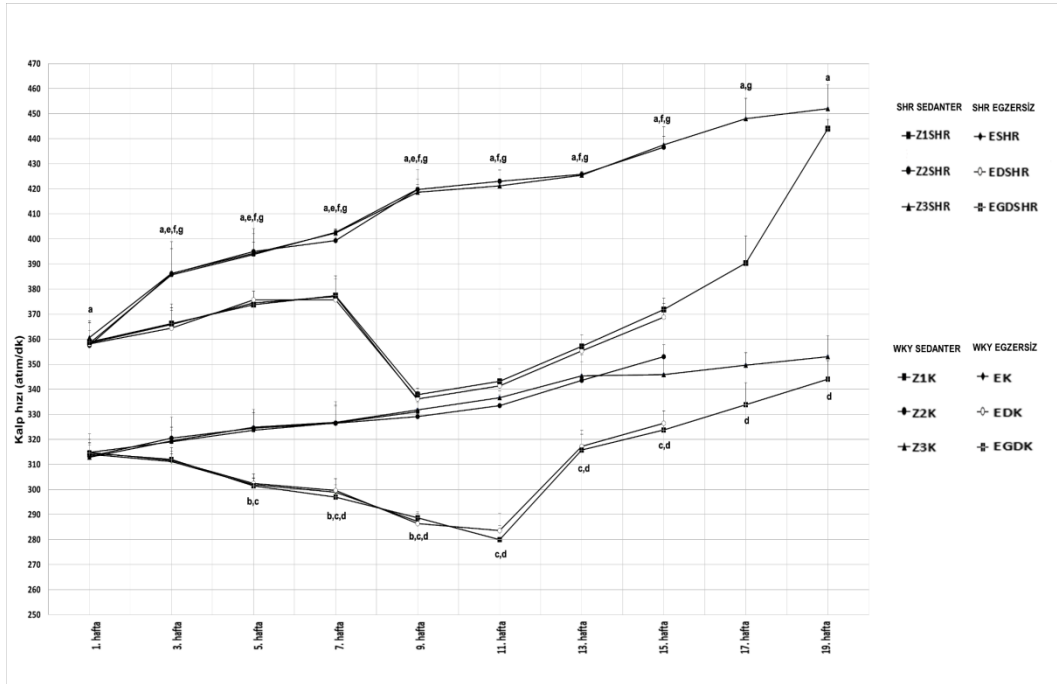
Hipertansif sıçanların kalp hızlarının ilk ölçümden itibaren deney sonuna kadar kontrol sıçanlara göre yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Egzersizin kalp hızını azaltıcı etkisi hipertansif sıçanlarda 3., normotansif sıçanlarda 5. haftada gözlenmeye başlamıştır ($p<0,0001$). Farklar kontrollerde deney sonuna kadar devam ederken, hipertansif sıçanların kalp hızı egzersizi bırakmayı takiben artmaya başlamış, 19. haftada kalp hızı açısından sedanter hipertansif sıçanlarla aralarındaki fark ortadan kalkmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.1 Deney gruplarının vücut ağırlığı ölçümleri (gr).

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR ^a:p < 0,0001, WKY gruplarının karşılık gelen SHR gruplarından farkı; ^b:p < 0,0001, EK'dan fark; ^c:p < 0,0001, EDK'dan fark; ^d:p < 0,0001, EGDK'dan fark; ^e:p < 0,0001, ESHR'den fark; ^f:p < 0,0001, EDSHR'den fark; ^g:p < 0,0001, EGDSHR'den fark

Şekil 4.3 deney gruplarının SKB değerlerini göstermektedir. Deneyin başlangıcından sonuna kadar SHR'lerin SKB'leri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek saptanmıştır (p<0,0001). Egzersizin SKB'yi azaltıcı etkisi kontrol sıçanlarda 9. haftada gözlenmeye başlamıştır (p<0,0001). Egzersizi bırakır bırakmaz normotansif sıçanlarda SKB yükselmeye başlamış ve 13. haftada yapılan ölçümde EK ile Z1K, EDK ile Z2K, EGDK ile Z3K grupları arasındaki fark ortadan kalkmıştır. Öte yandan, hipertansif sıçanlarda ise egzersizin SKB'yi azaltıcı etkisi daha erken (7. haftada) gözlenmeye başlamış, egzersizi bırakınca da 5 hafta boyunca korunmaya devam etmiştir (p<0,0001). Egzersizi bırakan SHR'lerin SKB'si ile sedanter SHR'lerin SKB'si arasındaki istatistiksel fark 17. haftada ortadan kalkmış, 19. haftada her iki grubun SKB'si aynı değere ulaşmıştır.

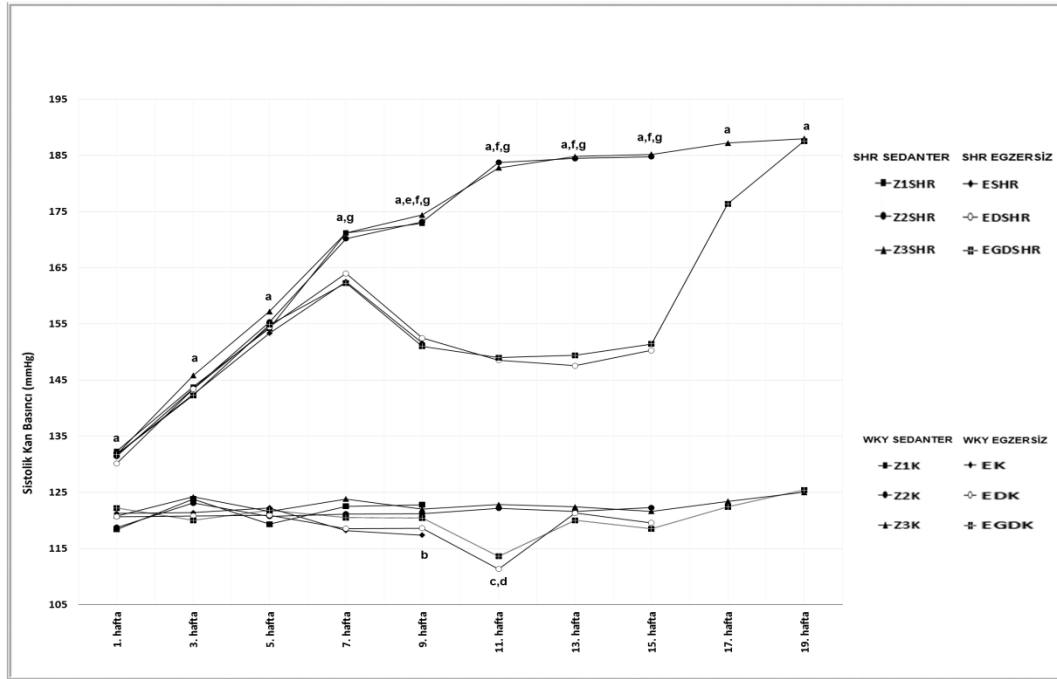


Şekil 4.2 Deney gruplarının kalp hızı ölçümleri (atım/dk).

Ortalama±SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR ^a:p < 0,0001, WKY gruplarının karşılık gelen SHR gruplarından farkı; ^b:p < 0,0001, Z1K'dan fark; ^c:p < 0,0001, Z2K'dan fark; ^d:p < 0,0001, Z3K'dan fark; ^e:p < 0,0001, ESHR'den fark; ^f:p < 0,0001, EDSHR'den fark; ^g:p < 0,0001, EGDSHR'den fark

4.3. Aort ve Gastrocnemius Kası Direnç Arterlerinde iNOS, eNOS, HO-1 ve HO-2 Genleri mRNA Ekspresyon Düzeyleri

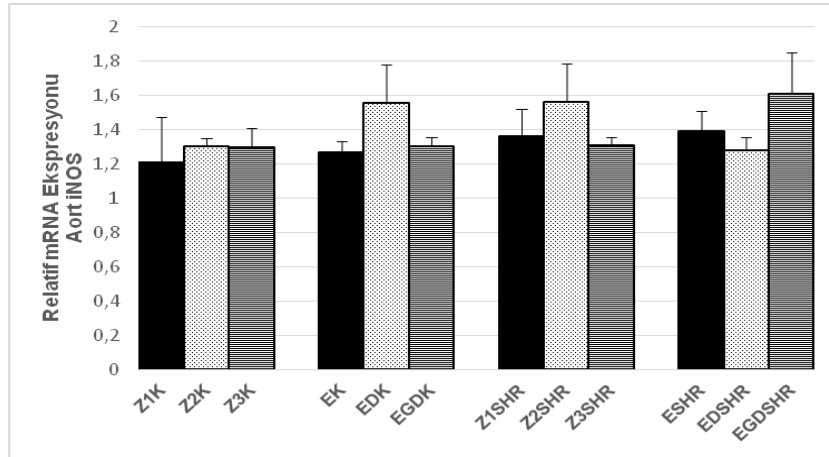
Çalışmaya dahil edilen gruplara ait damar doku örneklerinde *iNOS*, *eNOS*, *HO-1* ve *HO-2* genleri mRNA ekspresyon düzeyleri β -aktin geni mRNA düzeyine göre relatif olarak kantite edilmiştir. Şekil 4.4 tüm grupların aort iNOS mRNA ekspresyon düzeylerini göstermektedir. Gruplar arasında aort iNOS mRNA ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde herhangi bir fark saptanmamıştır.



Şekil 4.3 Deney gruplarının sistolik kan basıncı ölçümleri (mmHg).

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR ^a:p < 0,0001, WKY gruplarının karşılık gelen SHR gruplarından farkı; ^b:p < 0,0001, Z1K'dan fark; ^c:p < 0,0001, Z2K'dan fark; ^d:p < 0,0001, Z3K'dan fark. ^e:p < 0,0001, ESHR'den fark; ^f:p < 0,0001, EDSHR'den fark; ^g:p < 0,0001, EGDSHR'den fark

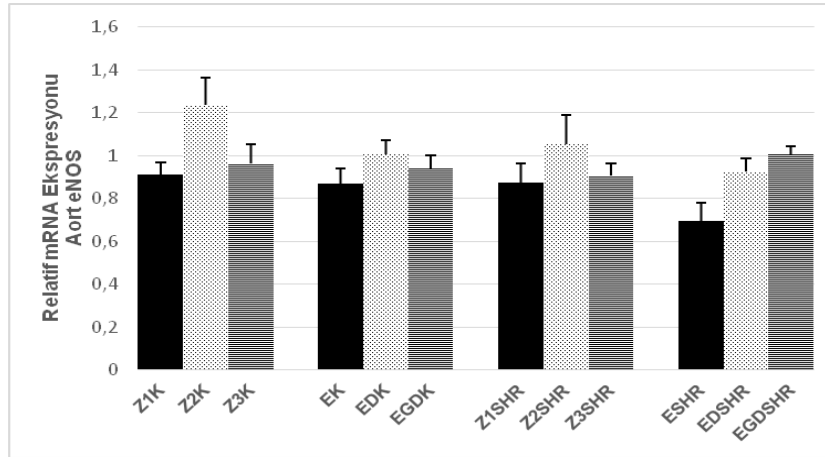
Aort iNOS mRNA ekspresyon düzeyleri için floresan değerleri; Z1K grubunda ortalama değer 1.212 ± 0.464 (aralık: 1.05-1.32), Z2K grubunda ortalama değer 1.302 ± 0.047 (aralık: 1.15-1.50), Z3K grubunda ortalama değer 1.297 ± 0.112 (aralık: 0.88-1.49), EK grubunda ortalama değer 1.271 ± 0.062 (aralık: 1.1-1.58), EDK grubunda ortalama değer 1.557 ± 0.226 (aralık:1.27-2.23), EGDK grubunda ortalama değer 1.303 ± 0.112 (aralık: 1.19-1.5), Z1SHR grubunda ortalama değer 1.362 ± 0.054 (aralık:1.03-2.09), Z2SHR grubunda ortalama değer 1.563 ± 0.224 (aralık:1.34-2.01), Z3SHR grubunda ortalama değer 1.309 ± 0.05 (aralık:1.19-1.44), ESHR grubunda ortalama değer 1.391 ± 0.224 (aralık: 1.08-1.8), EDSHR grubunda ortalama değer 1.282 ± 0.076 (aralık: 1.14-1.58), EGDSHR grubunda ortalama değer 1.616 ± 0.65 (aralık:1.05-2.95) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.4 Grupların aort iNOS mRNA ekspresyon düzeyleri.

Ortalama±SH.Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.

Aort eNOS mRNA ekspresyon düzeyleri açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir fark saptanmamıştır (Şekil 4.5). Aort eNOS mRNA ekspresyon düzeyleri için floresan değerleri, Z1K grubunda ortalama değer 0.913 ± 0.055 (aralık: 0.72-1.06), Z2K grubunda ortalama değer 1.236 ± 0.13 (aralık: 0.97-1.74), Z3K grubunda ortalama değer 0.964 ± 0.091 (aralık: 0.68-1.24), EK grubunda ortalama değer 0.869 ± 0.071 (aralık: 0.6-1.09), EDK grubunda ortalama değer 1.007 ± 0.067 (aralık:0.87-1.17), EGDK grubunda ortalama değer 0.938 ± 0.061 (aralık: 0.7-1.07), Z1SHR grubunda ortalama değer 0.873 ± 0.09 (aralık: 0.57-1.23), Z2SHR grubunda ortalama değer 1.055 ± 0.224 (aralık: 0.59-1.34), Z3SHR grubunda ortalama değer 0.905 ± 0.059 (aralık:0.78 -1.03), ESHR grubunda ortalama 0.694 ± 0.085 (aralık: 0.52-0.96), EDSHR grubunda ortalama değer 0.927 ± 0.059 (aralık: 0.83-1.15), EGDSHR grubunda ortalama değer 1.005 ± 0.04 (aralık:0.88-1.15) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5 Grupların aort eNOS mRNA ekspresyon düzeyleri.

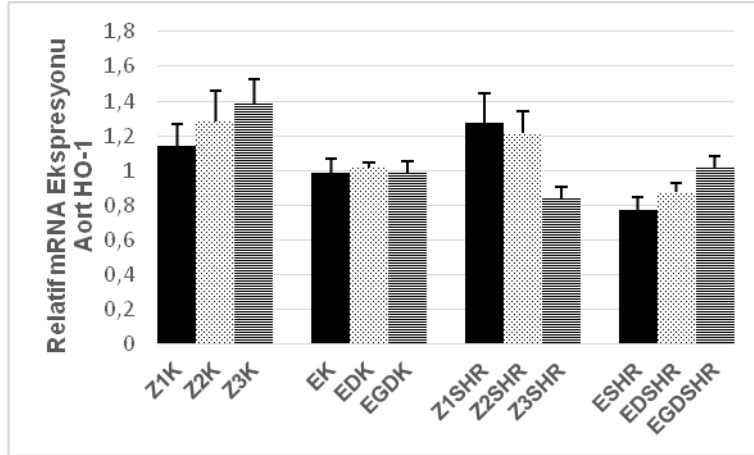
Ortalama±SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.

Şekil 4.6 ve 4.7 sırasıyla aort HO-1 ve HO-2 mRNA değerlerini göstermektedir. Benzer şekilde, aort HO-1 ve HO-2 mRNA ekspresyon düzeyleri açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir fark saptanmamıştır.

Aortta HO-1 mRNA ekspresyon düzeyleri için floresan değerleri; Z1K grubunda ortalama değer 1.14 ± 0.125 (aralık: 0.9-1.67), Z2K grubunda ortalama değer 1.282 ± 0.279 (aralık: 0.97-2.68), Z3K grubunda ortalama değer 1.383 ± 0.146 (aralık: 1.04-1.88), EK grubunda ortalama değer 0.989 ± 0.078 (aralık: 0.6-1.26), EDK grubunda ortalama değer 1.019 ± 0.026 (aralık: 0.97- 1.07), EGDK grubunda ortalama değer 0.987 ± 0.067 (aralık: 0.8-1.17), Z1SHR grubunda ortalama değer 1.271 ± 0.273 (aralık: 0.85-2.63), Z2SHR grubunda ortalama değer 1.213 ± 0.125 (aralık: 0.96-1.34), Z3SHR grubunda ortalama değer 0.837 ± 0.069 (aralık: 0.71-1), ESHR grubunda ortalama 0.769 ± 0.078 (aralık: 0.52-0.96), EDSHR grubunda ortalama değer 0.877 ± 0.047 (aralık: 0.76-1), EGDSHR grubunda ortalama değer 1.017 ± 0.062 (aralık: 0.77-1.22) olarak saptanmıştır.

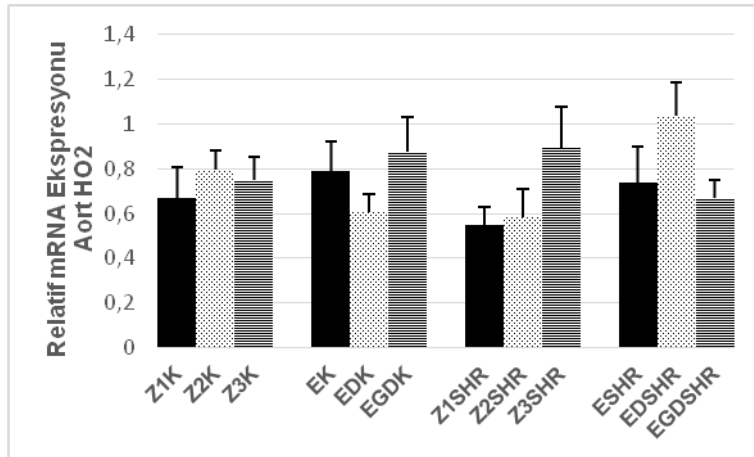
Aortta HO-2 mRNA ekspresyon düzeyleri için floresan değerleri, Z1K grubunda ortalama değer 0.67 ± 0.135 (aralık: 0.25-1.02), Z2K grubunda ortalama değer 0.797 ± 0.088 (aralık: 0.49-1.08), Z3K grubunda ortalama değer 0.748 ± 0.107 (aralık: 0.48-1.06), EK grubunda ortalama değer 0.791 ± 0.132 (aralık: 0.38-1.47), EDK grubunda ortalama değer 0.607 ± 0.08 (aralık: 0.37- 0.73), EGDK grubunda ortalama değer 0.878 ± 0.156 (aralık: 0.34-1.2), Z1SHR grubunda ortalama değer 0.548 ± 0.08 (aralık: 0.32-0.83), Z2SHR grubunda ortalama değer 0.582 ± 0.329 (aralık: 0.24-1.24), Z3SHR grubunda ortalama değer 0.892 ± 0.284 (aralık: 0.44-1.65), ESHR grubunda

ortalama 0.739 ± 0.158 (aralık: 0.27-1.19), EDSHR grubunda ortalama değer 1.036 ± 0.2537 (aralık:0.58-2.01), EGDSHR grubunda ortalama değer 0.669 ± 0.081 (aralık: 0.42-0.94) olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.6 Grupların aort HO-1 mRNA ekspresyon düzeyleri.

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.



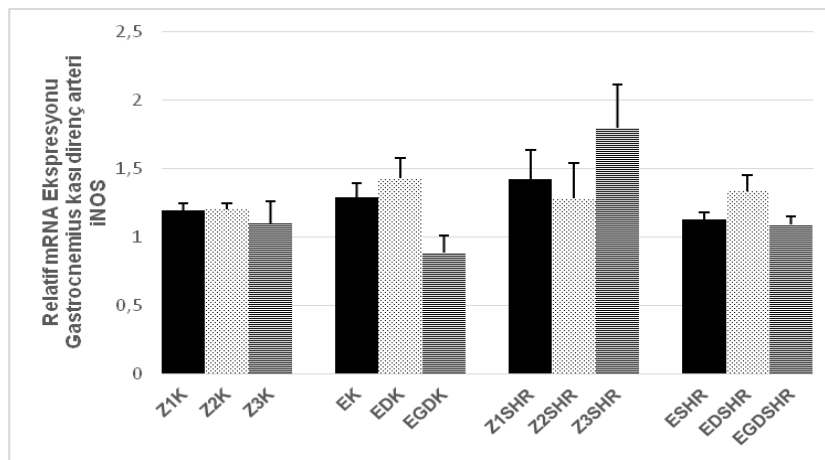
Şekil 4.7 Grupların aort HO-2 mRNA ekspresyon düzeyleri

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.

Gastrocnemius kası direnç arterinde iNOS mRNA ekspresyon düzeyleri için floresan değerleri; Z1K grubunda ortalama değer 1.195 ± 0.053 (aralık: 1.07-1.37), Z2K grubunda ortalama değer 1.2 ± 0.051 (aralık: 1.08-1.34), Z3K grubunda ortalama değer 1.097 ± 0.364 (aralık: 0.4-1.62), EK grubunda ortalama değer 1.29 ± 0.108 (aralık:

1.06-1.79), EDK grubunda ortalama değer 1.431 ± 0.149 (aralık: 1.14-1.84), EGDK grubunda ortalama değer 0.888 ± 0.327 (aralık: 0.24-1.3), Z1SHR grubunda ortalama değer 1.51 ± 0.211 (aralık: 1.1-2.37), Z2SHR grubunda ortalama değer 1.284 ± 0.26 (aralık: 1.02-1.55), Z3SHR grubunda ortalama değer 1.799 ± 0.321 (aralık: 1.16-2.2), ESHR grubunda ortalama değer 1.131 ± 0.05 (aralık: 0.96-1.25), EDSHR grubunda ortalama değer 1.337 ± 0.117 (aralık: 1.06-1.75), EGDSHR: grubunda ortalama değer 1.094 ± 0.055 (aralık: 0.97-1.24) olarak belirlenmiştir.

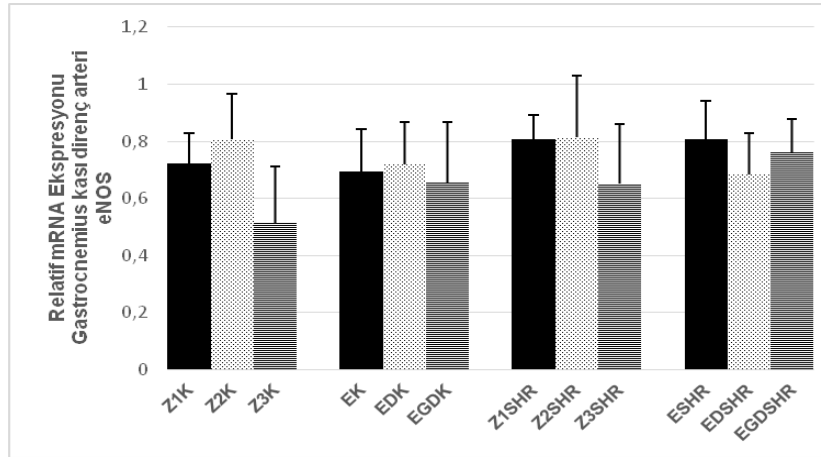
Şekil 4.8, gastrocnemius kası direnç arterinde *iNOS* (*NOS2*), Şekil 4.9 ise *eNOS* (*NOS3*) mRNA değerlerini göstermektedir. Gruplar arasında her iki parametre açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde bir fark saptanmamıştır.



Şekil 4.8 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde *iNOS* mRNA ekspresyon düzeyleri.

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.

Gastrocnemius kası direnç arterinde *eNOS* mRNA ekspresyon düzeyleri için floresan değerleri; Z1K grubunda ortalama değer 0.721 ± 0.109 (aralık: 0.4-1.07), Z2K grubunda ortalama değer 0.808 ± 0.159 (aralık: 0.23-1.25), Z3K grubunda ortalama değer 0.514 ± 0.197 (aralık: 0.23-0.9), EK grubunda ortalama değer 0.694 ± 0.147 (aralık: 0.19-1.14), EDK grubunda ortalama değer 0.72 ± 0.147 (aralık: 0.44-1.01), EGDK grubunda ortalama değer 0.656 ± 0.212 (aralık: 0.26-0.99), Z1SHR grubunda ortalama değer 0.848 ± 0.083 (aralık: 0.65-1.07), Z2SHR grubunda ortalama değer 0.815 ± 0.216 (aralık: 0.6-1.03), Z3SHR grubunda ortalama değer 0.653 ± 0.206 (aralık: 0.31- 1.03), ESHR grubunda ortalama değer 0.809 ± 0.134 (aralık: 0.44-1.06), EDSHR grubunda ortalama değer 0.683 ± 0.146 (aralık: 0.39-1.1), EGDSHR: grubunda ortalama değer 0.763 ± 0.116 (aralık: 0.44-1) olarak saptanmıştır.

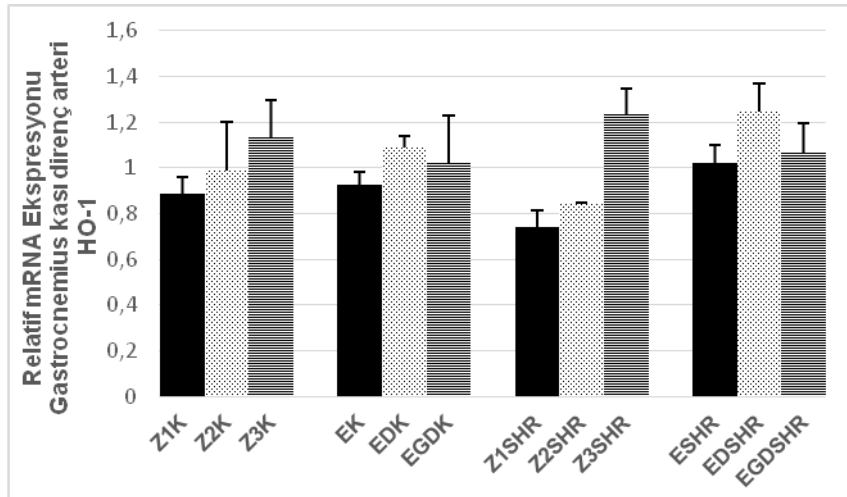


Şekil 4.9 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde eNOS mRNA ekspresyon düzeyleri.

Ortalama±SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.

Şekil 4.10, Gastrocnemius kası direnç arterinde HO-1, Şekil 4.11 ise HO-2 mRNA değerlerini göstermektedir. Gruplar arasında her iki parametre açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde bir fark saptanmamıştır.

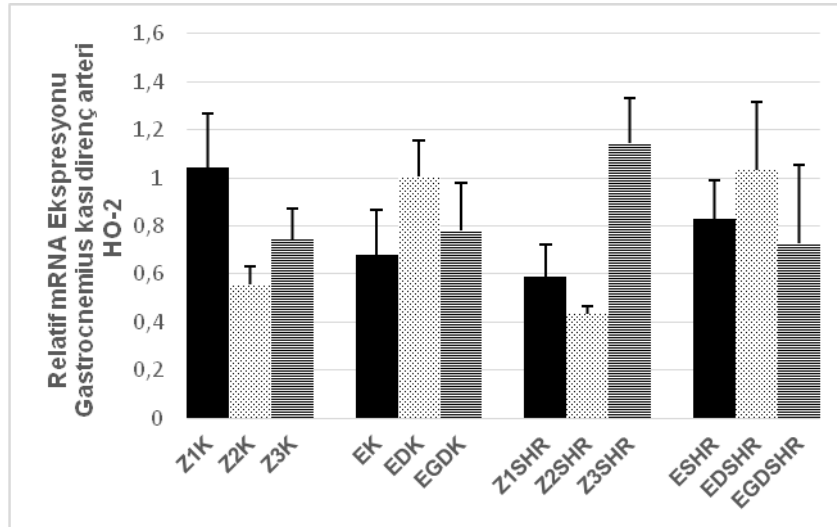
Gastrocnemius kası direnç arterinde HO-1 mRNA ekspresyon düzeyleri için floresan değerleri; Z1K grubunda ortalama değer 0.886 ± 0.075 (aralık:0.62-1.12), Z2K grubunda ortalama değer 0.988 ± 0.814 (aralık:0.8- 1.34), Z3K grubunda ortalama değer 1.131 ± 0.264 (aralık:0.77-1.65), EK grubunda ortalama değer 0.923 ± 0.06 (aralık:0.74-1.16), EDK grubunda ortalama değer 1.09 ± 0.05 (aralık: 1-1.23), EGDK grubunda ortalama değer 1.019 ± 0.207 (aralık:0.62-1.32), Z1SHR grubunda ortalama değer 0.72 ± 0.071 (aralık: 0.49-0.9), Z2SHR grubunda ortalama değer 0.843 ± 0.006 (aralık: 0.84-0.85), Z3SHR grubunda ortalama değer 1.233 ± 0.314 (aralık: 0.91-1.86), ESHR grubunda ortalama değer 1.018 ± 0.084 (aralık:0.9-1.35), EDSHR grubunda ortalama değer 1.245 ± 0.124 (aralık:0.81-1.48), EGDSHR: grubunda ortalama değer 1.068 ± 0.127 (aralık:0.74-1.34) olarak saptanmıştır.



Şekil 4.10 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde HO-1 mRNA ekspresyon düzeyleri.

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.

Gastrocnemius kası direnç arterinde HO-2 mRNA ekspresyon düzeyleri için floresan değerleri; Z1K grubunda ortalama değer 1.041 ± 0.227 (aralık: 0.52-2.07), Z2K grubunda ortalama değer 0.557 ± 0.076 (aralık: 0.35-0.83), Z3K grubunda ortalama değer 0.742 ± 0.13 (aralık: 0.58-1), EK grubunda ortalama değer 0.682 ± 0.186 (aralık: 0.09 - 1.33), EDK grubunda ortalama değer 1.006 ± 0.349 (aralık: 0.53-2.04), EGDK grubunda ortalama değer 0.781 ± 0.296 (aralık: 0.37-1.36), Z1SHR grubunda ortalama değer 0.63 ± 0.13 (aralık: 0.4-1.23), Z2SHR grubunda ortalama değer 0.433 ± 0.034 (aralık: 0.4-0.47), Z3SHR grubunda ortalama değer 1.143 ± 0.291 (aralık: 0.56-1.49), ESHR grubunda ortalama değer 0.828 ± 0.162 (aralık: 0.55-1.46), EDSHR grubunda ortalama değer 1.031 ± 0.284 (aralık: 0.27-1.86), EGDSHR grubunda ortalama değer 0.728 ± 0.324 (aralık: 0.32-1.69) olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.11 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde HO-2 mRNA ekspresyon düzeyleri.

Ortalama±SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.

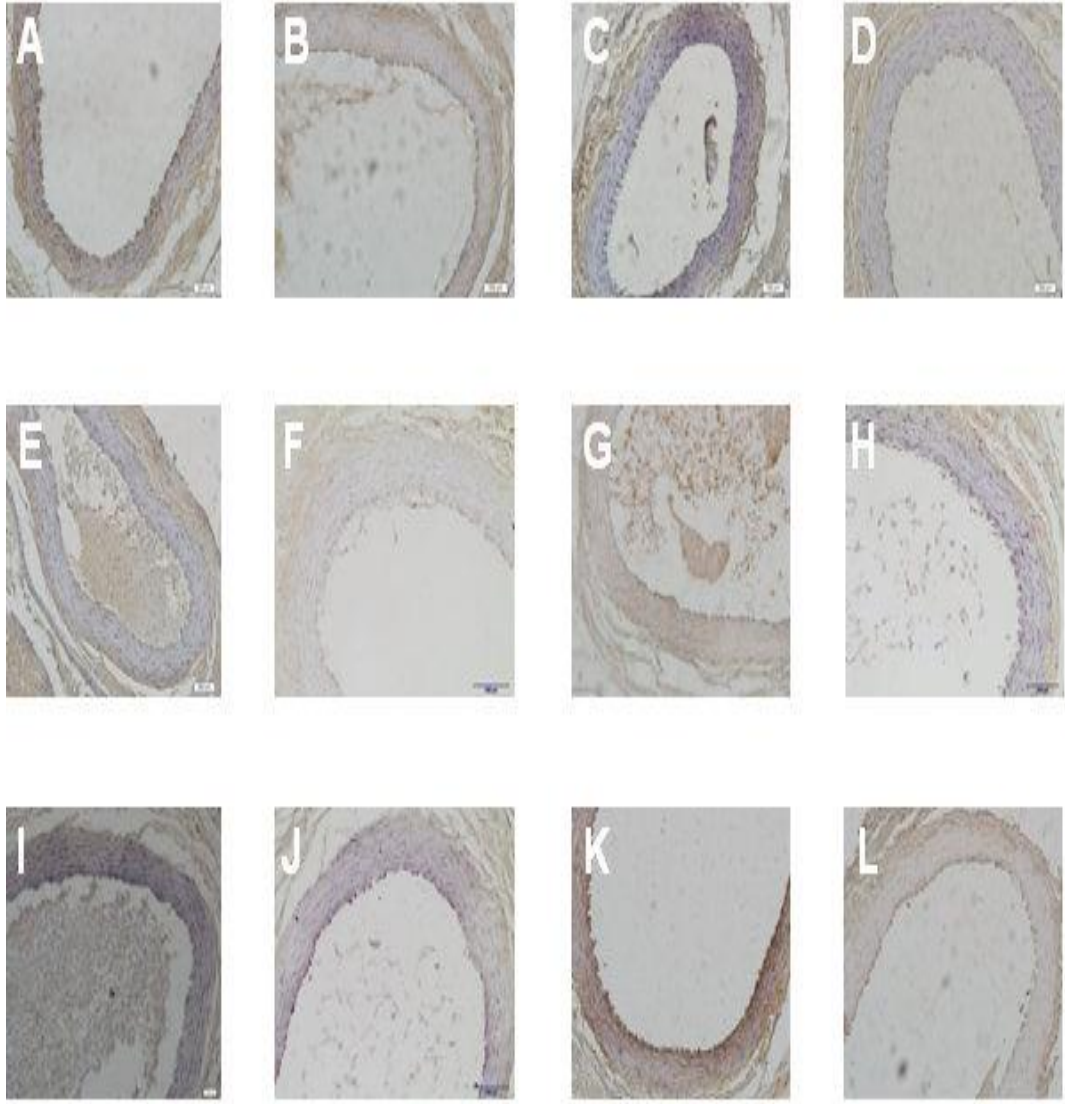
4.4. İmmünohistokimyasal Boyama Sonuçları

Deney gruplarındaki aort ve gastrocnemius kası direnç arterlerinde doku düzeyinde endotel, medya ve adventisya tabakalarında *NOS2 (iNOS)*, *NOS3 (eNOS)*, *HO-1* ve *HO-2'nin* varlığını ve yerleşimini belirlemek amacıyla immün boyanmaları değerlendirilmiştir. Aortta iNOS değerlendirmesi, tüm gruplarda tunika adventisyada pozitif ekspresyon gösterirken bazı gruplarda endotelde ve tunika medyada da pozitif boyanan hücrelere rastlanmıştır. Genel olarak tüm gruplarda aortta eNOS diğer antikora karşı en fazla eksprese olmuştur. Ekspresyon endotelde, tunika adventisyada yoğun olarak izlenirken tunika medyada hem pozitif ve hem de negatif boyanan hücrelere rastlanmıştır. Aortta HO-1 immünboyanması için ise, tüm grupların endotel tabakası ve tunika medyası negatif boyanma gösterirken tunika adventisyada zayıf ve orta dereceli boyanmalar izlenmiştir. Aort HO-2 immünboyanma sonuçlarına göre, ESHR, EDSHR ve EGDSHR gruplarında endotel ve adventisyada yoğun boyanma izlenirken Z1SHR, Z2SHR ve Z3SHR gruplarında daha zayıf boyanma gözlenmiştir. WKY egzersiz gruplarında ise endotelde zayıf, adventisyada orta derecede boyanma izlenirken tunika medyada ise negatif boyanma izlenmiştir. WKY sedanter gruplarında ise endotelde ve tunika medyada zayıf boyanma gözlenirken, adventisyada yoğun ekspresyon dikkat çekiciydi.

Grupların gastrocnemius kası direnç arterleri iNOS açısından immünboyanma özellikleri değerlendirildiğinde, tüm gruplarda NOS2 ekspresyonu özellikle adventisyada yoğun bununla birlikte tunika medya ve endotelde orta ve zayıf boyanma izlenmiştir. Gastrocnemius kası direnç arterlerinde gösterilen NOS3 ise, tüm gruplarda endotel, medya ve adventisya tabakalarında kuvvetli ve orta derecede boyanma göstermiştir.

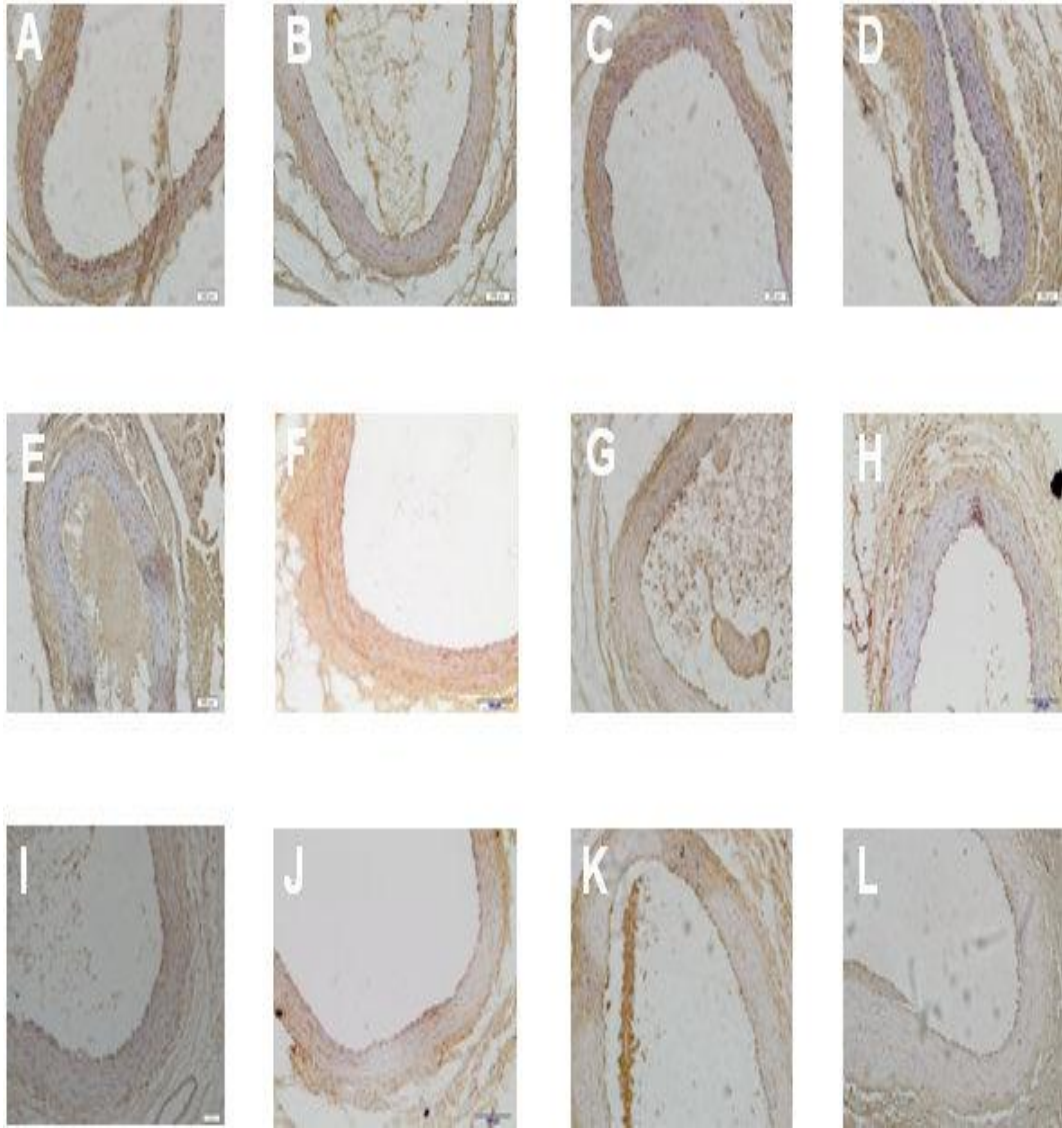
HO-1 açısından değerlendirilirse, tüm gruplarda endotel ve tunika medyada negatif boyanma izlenirken, adventisya tabakasında zayıf boyanma dikkati çekmektedir. HO-2 gastrocnemius kası direnç arterinde, egzersiz gruplarında her üç tabakada da pozitif ekspresyon göstermiş sedanter gruplarda ise endotelde boyanma daha az olarak izlenmiştir.

Bunlarla birlikte, Şekil 4.12, 4.13, 4.14 ve 4.15 sırasıyla aort NOS2 (iNOS), NOS3 (eNOS), HO-1 ve HO-2 proteinlerinin varlığını ve yerleşimini, Şekil 4.16, 4.17, 4.18 ve 4.19 ise sırasıyla gastrocnemius kası direnç arterlerinde iNOS, eNOS, HO-1 ve HO-2 proteinlerinin varlığını ve yerleşimini göstermektedir.



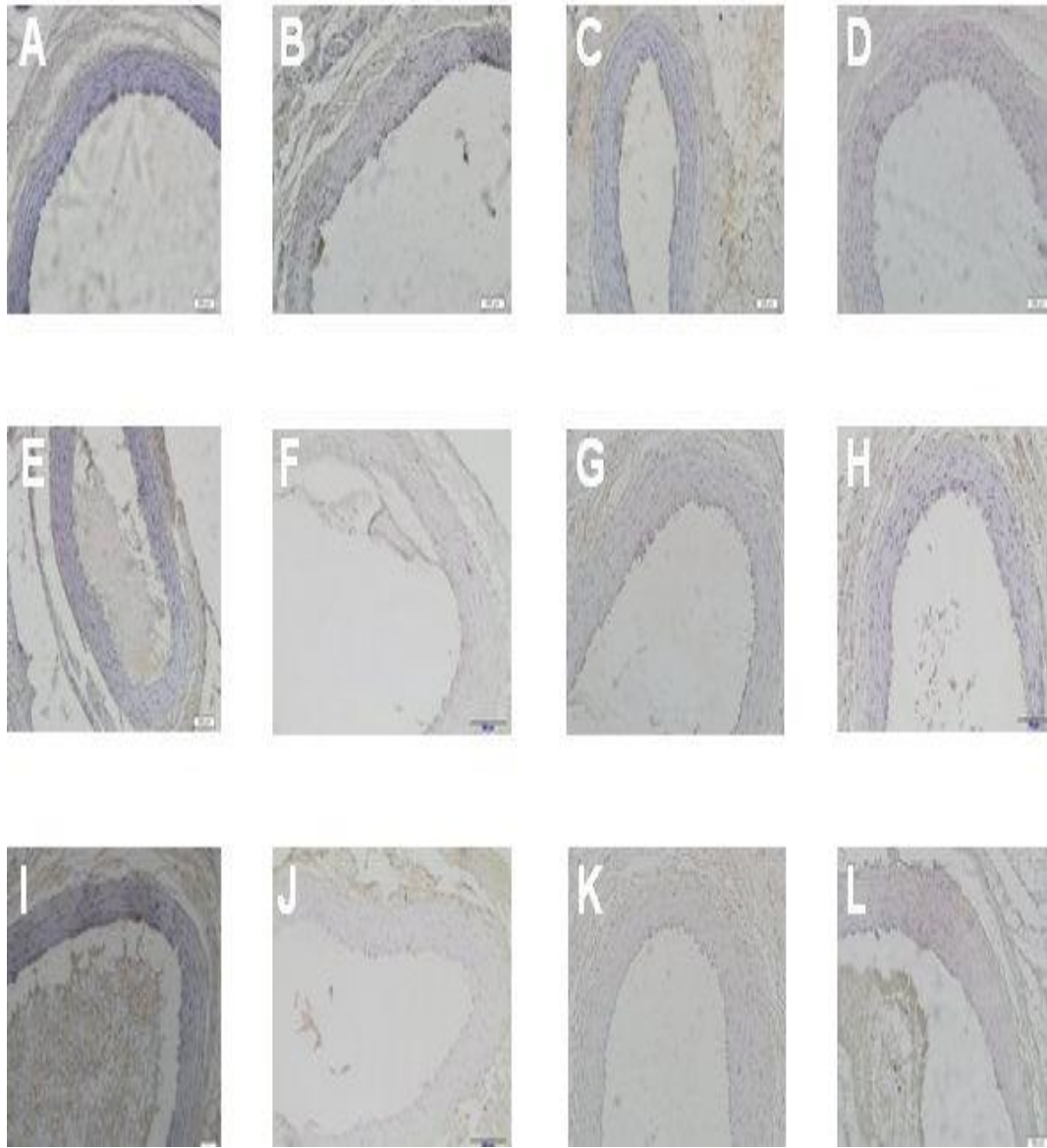
Şekil 4.12 Gruplarda aort iNOS proteinlerinin yerleşimi.

A: WKY Zaman 1 Kontrol, B: WKY Zaman 2 Kontrol, C: WKY Zaman 3 Kontrol, D: WKY Egzersiz yapan Kontrol, E: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, F: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, G: SHR Zaman 1, H: SHR Zaman 2, I: SHR Zaman 3, J: Egzersiz yapan SHR, K: Egzersiz Detraining SHR, L: Egzersiz Geç Detraining SHR



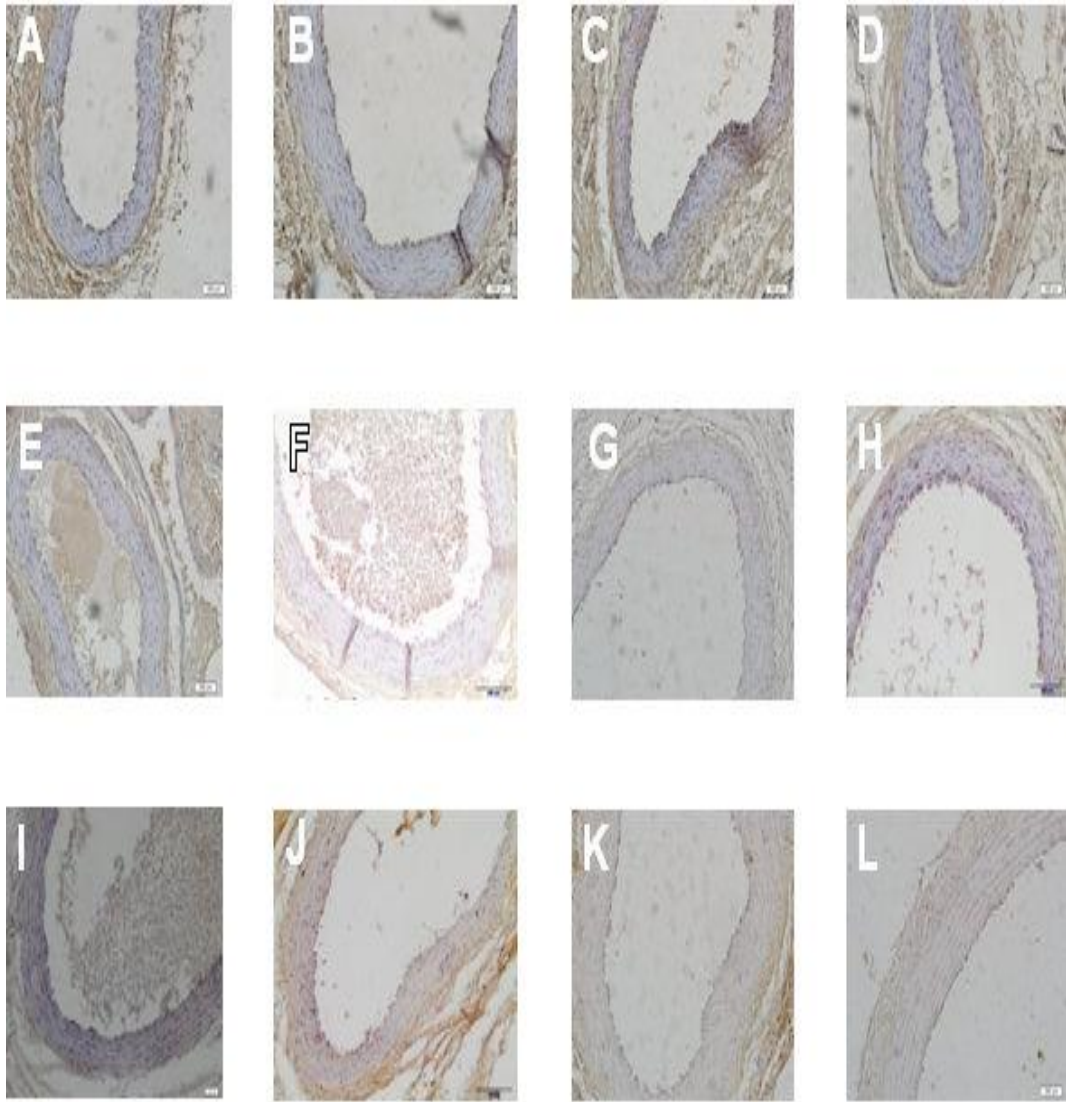
Şekil 4.13 Gruplarda aort eNOS proteinlerinin yerleşimi.

A: WKY Zaman 1 Kontrol, B: WKY Zaman 2 Kontrol, C: WKY Zaman 3 Kontrol, D: WKY Egzersiz yapan Kontrol, E: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, F: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, G: SHR Zaman 1, H: SHR Zaman 2, I: SHR Zaman 3, J: Egzersiz yapan SHR, K: Egzersiz Detraining SHR, L: Egzersiz Geç Detraining SHR



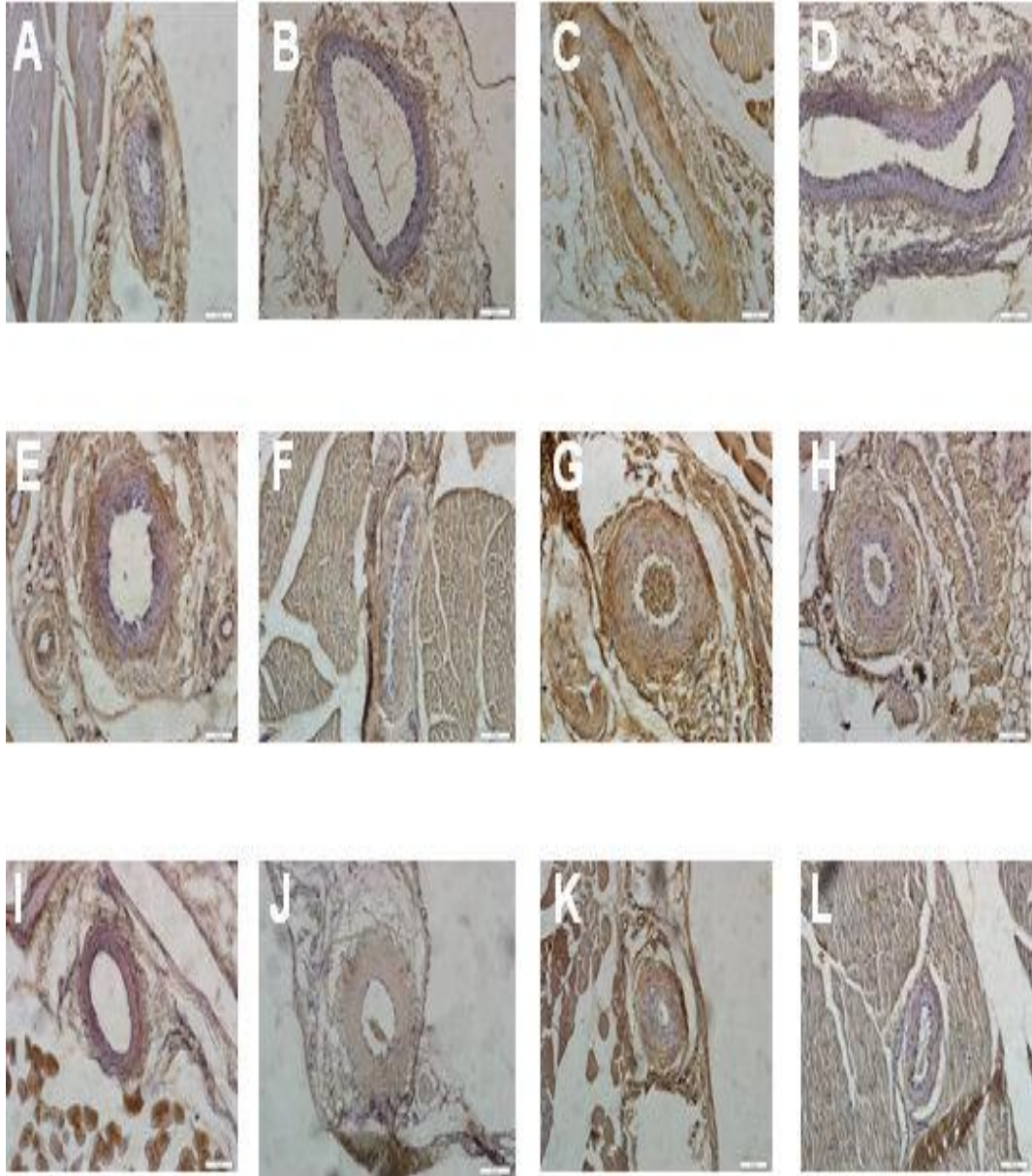
Şekil 4.14 Gruplarda aort HO-1 proteinlerinin yerleşimi.

A: WKY Zaman 1 Kontrol, B: WKY Zaman 2 Kontrol, C: WKY Zaman 3 Kontrol, D: WKY Egzersiz yapan Kontrol, E: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, F: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, G: SHR Zaman 1, H: SHR Zaman 2, I: SHR Zaman 3, J: Egzersiz yapan SHR, K: Egzersiz Detraining SHR, L: Egzersiz Geç Detraining SHR



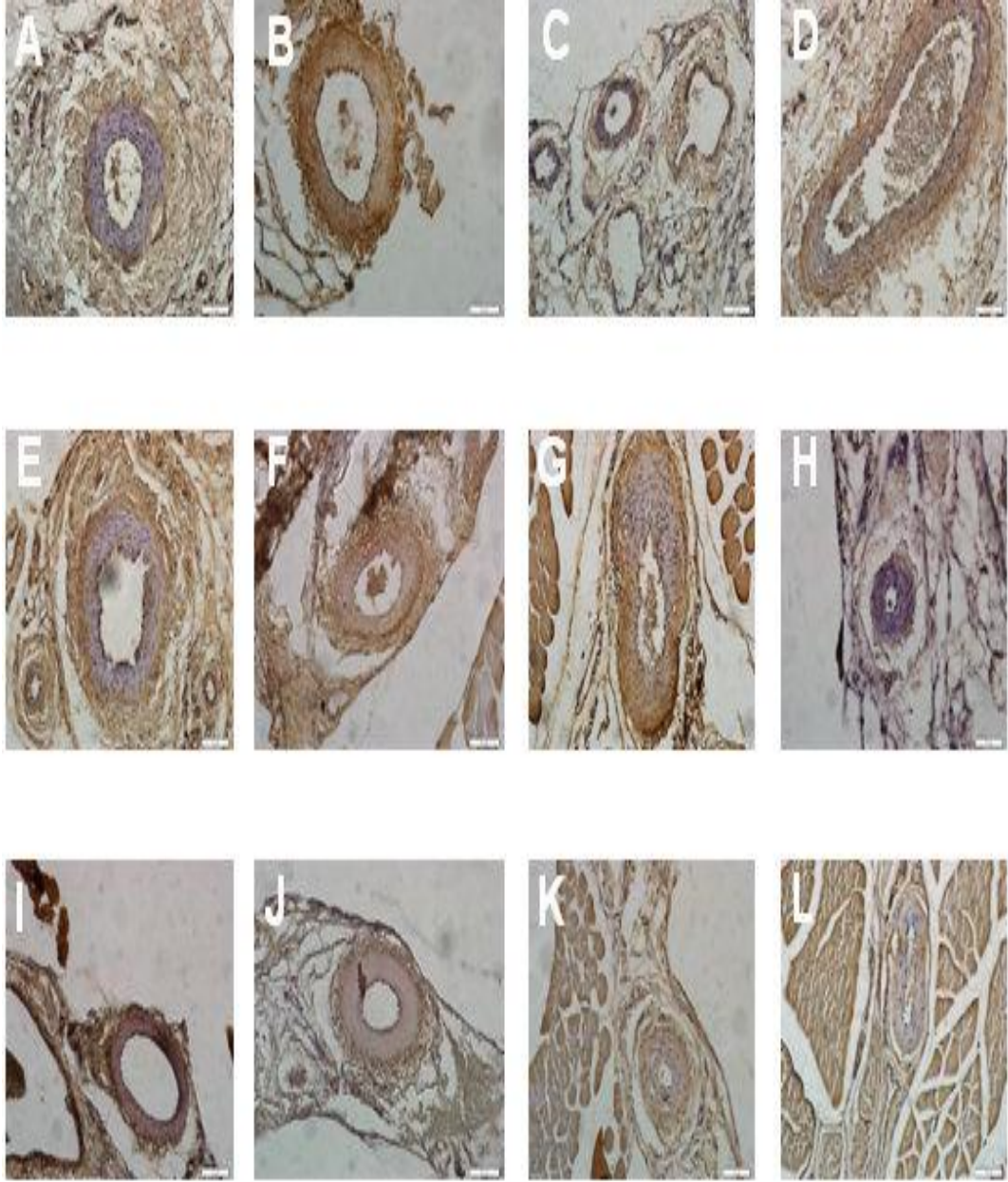
Şekil 4.15 Gruplarda aort HO-2 proteinlerinin yerleşimi.

A: WKY Zaman 1 Kontrol, B: WKY Zaman 2 Kontrol, C: WKY Zaman 3 Kontrol, D: WKY Egzersiz yapan Kontrol, E: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, F: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, G: SHR Zaman 1, H: SHR Zaman 2, I: SHR Zaman 3, J: Egzersiz yapan SHR, K: Egzersiz Detraining SHR, L: Egzersiz Geç Detraining SHR



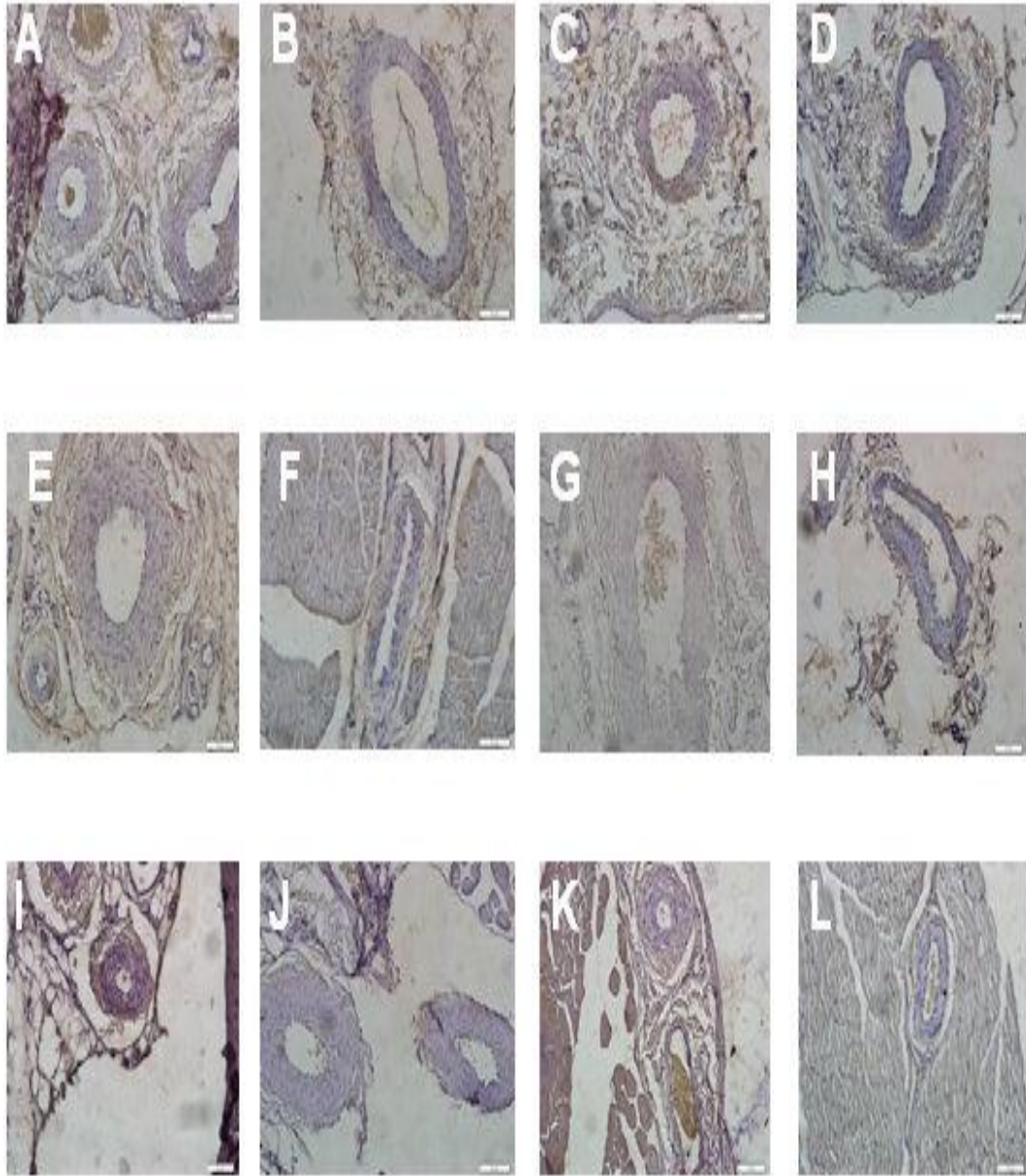
Şekil 4.16 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde iNOS proteinlerinin yerleşimi.

A: WKY Zaman 1 Kontrol, B: WKY Zaman 2 Kontrol, C: WKY Zaman 3 Kontrol, D: WKY Egzersiz yapan Kontrol, E: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, F: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, G: SHR Zaman 1, H: SHR Zaman 2, I: SHR Zaman 3, J: Egzersiz yapan SHR, K: Egzersiz Detraining SHR, L: Egzersiz Geç Detraining SHR



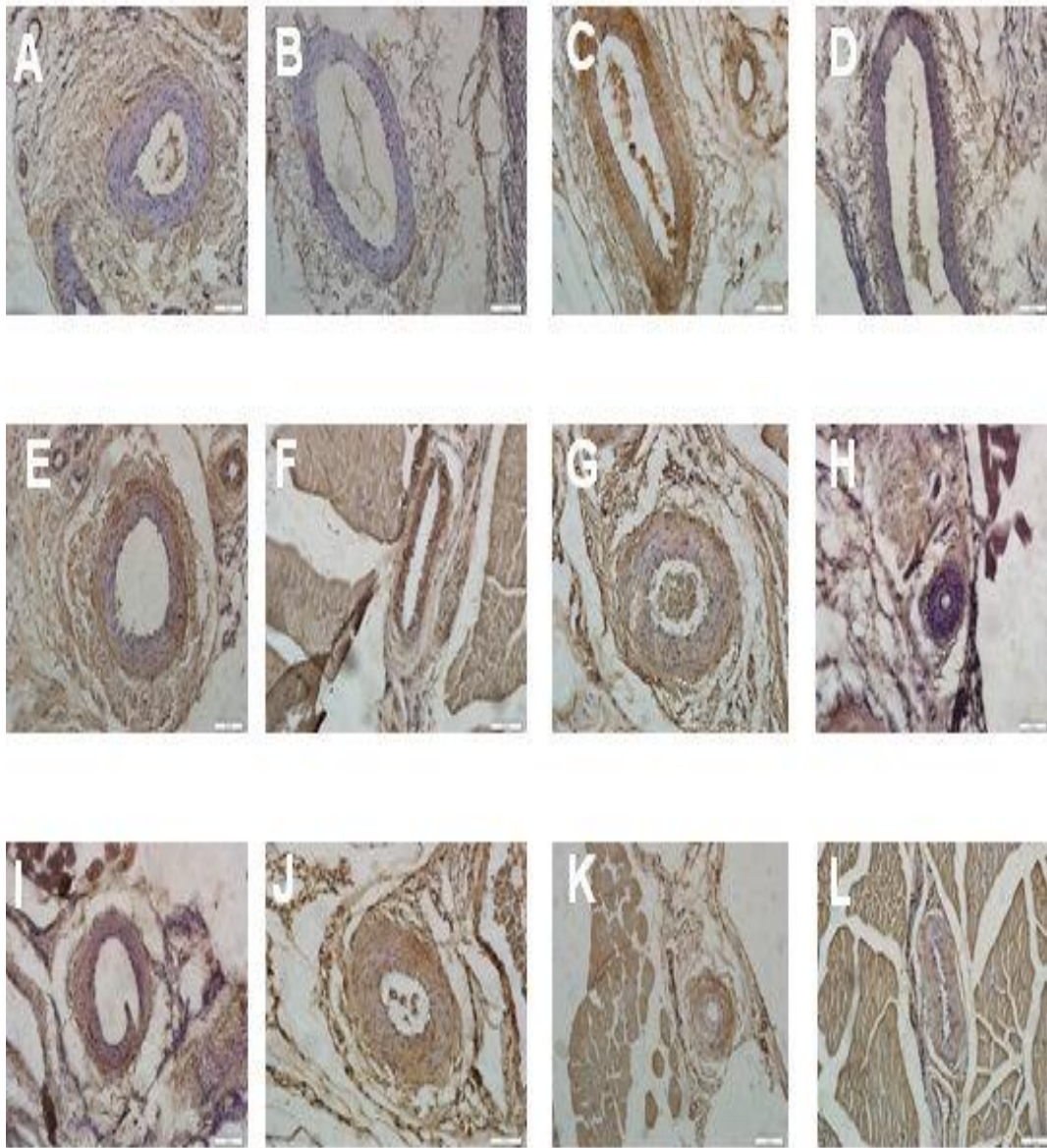
Şekil 4.17 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde eNOS proteinlerinin yerleşimi.

A: WKY Zaman 1 Kontrol, B: WKY Zaman 2 Kontrol, C: WKY Zaman 3 Kontrol, D: WKY Egzersiz yapan Kontrol, E: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, F: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, G: SHR Zaman 1, H: SHR Zaman 2, I: SHR Zaman 3, J: Egzersiz yapan SHR, K: Egzersiz Detraining SHR, L: Egzersiz Geç Detraining SHR



Şekil 4.18 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde HO-1 proteinlerinin yerleşimi.

A: WKY Zaman 1 Kontrol, B: WKY Zaman 2 Kontrol, C: WKY Zaman 3 Kontrol, D: WKY Egzersiz yapan Kontrol, E: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, F: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, G: SHR Zaman 1, H: SHR Zaman 2, I: SHR Zaman 3, J: Egzersiz yapan SHR, K: Egzersiz Detraining SHR, L: Egzersiz Geç Detraining SHR

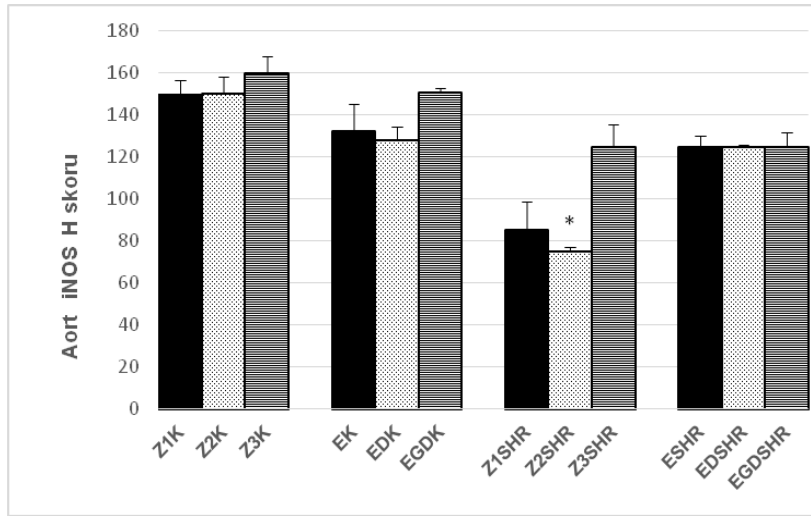


Şekil 4.19 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde HO-2 proteinlerinin yerleşimi.

A: WKY Zaman 1 Kontrol, B: WKY Zaman 2 Kontrol, C: WKY Zaman 3 Kontrol, D: WKY Egzersiz yapan Kontrol, E: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, F: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, G: SHR Zaman 1, H: SHR Zaman 2, I: SHR Zaman 3, J: Egzersiz yapan SHR, K: Egzersiz Detraining SHR, L: Egzersiz Geç Detraining SHR

Şekil 4.20'de, aortta NOS2 için pozitif boyanan hücre yüzdeleri gösterilmektedir. Hipertansif sıçanların aortlarında iNOS ekspresyonu immünohistokimyasal boyanma yüzdesinin kontrollere göre düşük olduğu saptanmıştır. Fark sadece Z2SHR ve Z2K grupları arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmuştur ($p=0,0001$). WKY ve SHR'lerin her iki arterinde de egzersizle iNOS ekspresyonunda istatistiksel olarak

önemli düzeyde değişim olmamıştır. Benzer şekilde, iNOS ekspresyonu detraining sürecinden de etkilenmemiştir.

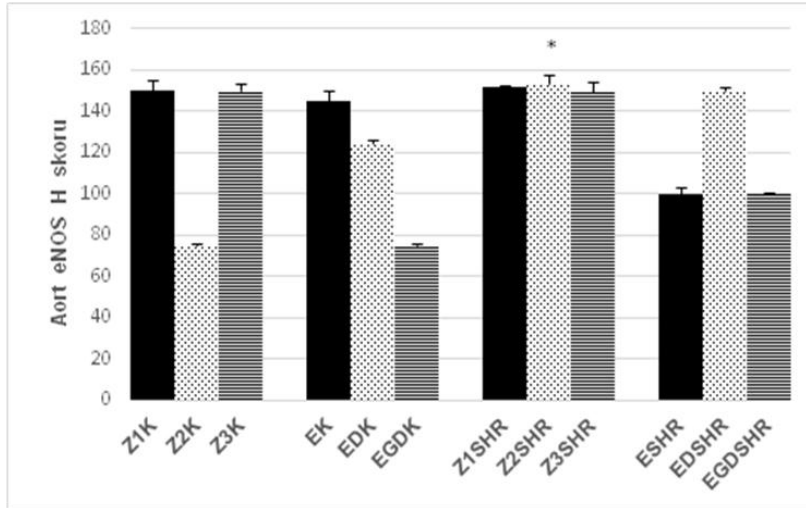


Şekil 4.20 Grupların aort iNOS H skoru

Ortalama±SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR. *p < 0,0001, Z2K'dan fark

Şekil 4.21'de, aortta NOS3 için pozitif boyanan hücre yüzdeleri gösterilmektedir. Z2SHR grubunda eNOS ekspresyonu immünohistokimyasal boyanma yüzdesi Z2K'dan istatistiksel olarak önemli bir şekilde yüksek bulunmuştur (p=0,0001). Normotansif sıçanlarda hem aort hem de gastrocnemius kası direnç arteri eNOS immünohistokimyasal boyanma özelliklerinde istatistiksel önemlilik oluşturmeyen zamana bağlı azalma tespit edilmiştir.

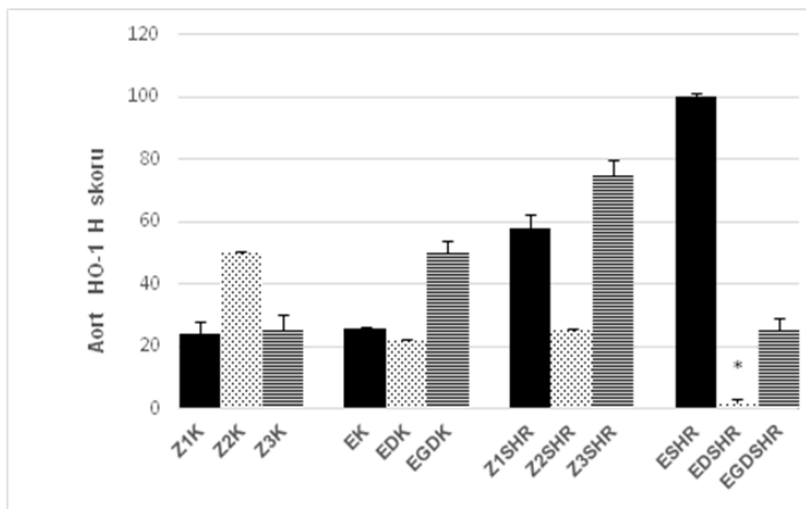
Aortta HO-1 için pozitif boyanan hücre yüzdeleri Şekil 4.22'de gösterilmektedir. Hipertansif sıçanların aortlarında uygulanan egzersiz protokolünün HO-1 immün boyanma özelliklerinde artışa sebep olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak, uygulanan yüzme egzersizine cevaben aortta SHR'lerde, gastrocnemius kası direnç arterinde ise hem WKY hem de SHR'lerde, HO-1'e ait pozitif boyanan hücre yüzdesinde artış gözlenmiştir. Artışlar istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir. EDSHR grubunda HO-1 ekspresyonu immünohistokimyasal boyanma yüzdesi ESHR'lerden istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur (p=0,0001).



Şekil 4.21 Grupların aort eNOS H skoru

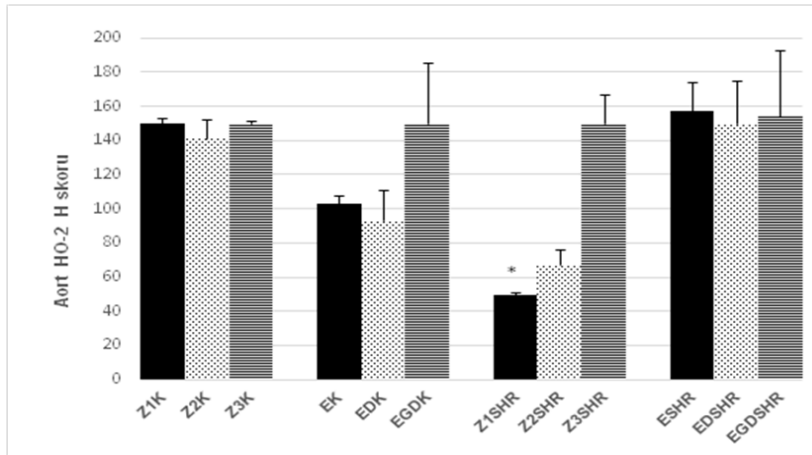
Ortalama±SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR. *p < 0,0001, Z2K'dan fark

Hipertansif sıçanların aortlarında uygulanan egzersiz protokolünün HO-2 immün boyanmasında artışa sebep olduğu tespit edilmiştir. Artış istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir (Şekil 4.23). Ek olarak, Z1SHR grubunda HO-2 ekspresyonu immünohistokimyasal boyanma yüzdesi Z1K grubundan istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur (p=0,0001).



Şekil 4.22 Grupların aort HO-1 H skoru

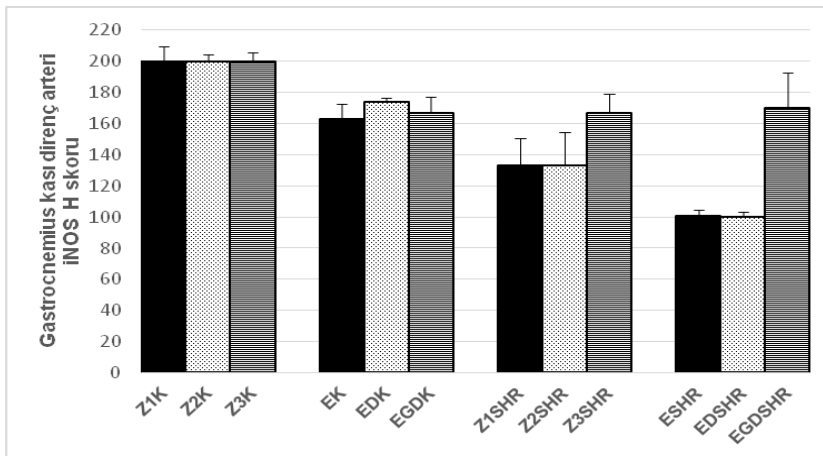
Ortalama±SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR. *p < 0,0001, ESHR'den fark



Şekil 4.23 Grupların aort HO-2 H skoru

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR. *p < 0,0001, Z1K'dan fark.

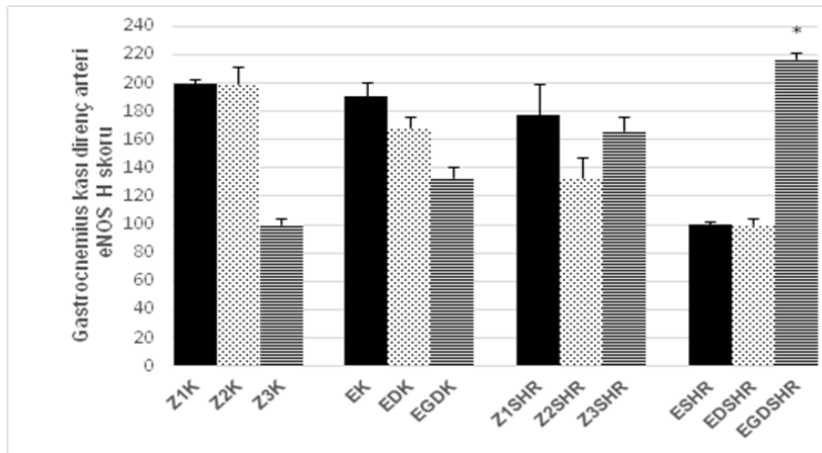
Şekil 4.24'te, gastrocnemius kası direnç arterinde grupların NOS-2 için pozitif boyanan hücre yüzdeleri gösterilmektedir. Gruplar arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir fark saptanmamıştır.



Şekil 4.24 Grupların gastrocnemius kası direnç arterleri iNOS H skoru

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.

Gastrocnemius kası direnç arterinde grupların NOS-3 için pozitif boyanan hücre yüzdeleri ise Şekil 4.25'de gösterilmiştir. EGDSHR grubunda NOS-3 immün boyanma özelliğinin ESHR ve EDSHR'lerden fazla olduğu saptanmıştır (p=0,0001). Gruplar arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde başka bir fark saptanmamıştır.

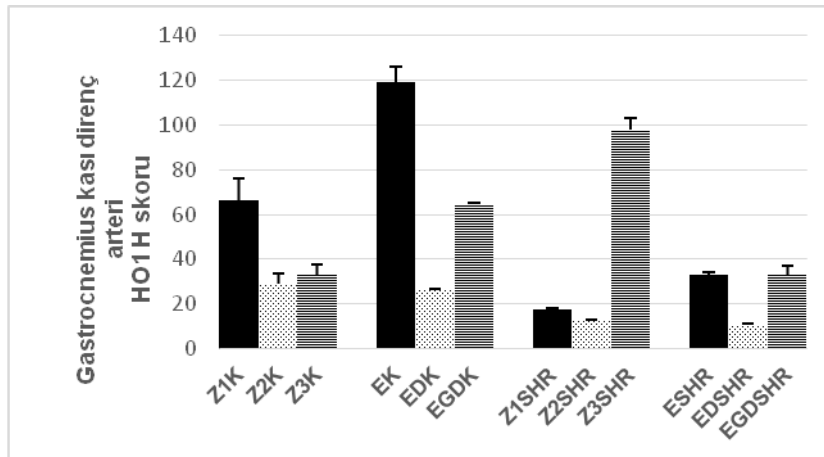


Şekil 4.25 Grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde eNOS H skoru

Ortalama \pm SH.Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR. *p < 0,0001, ESHR ve EDSHR'den fark

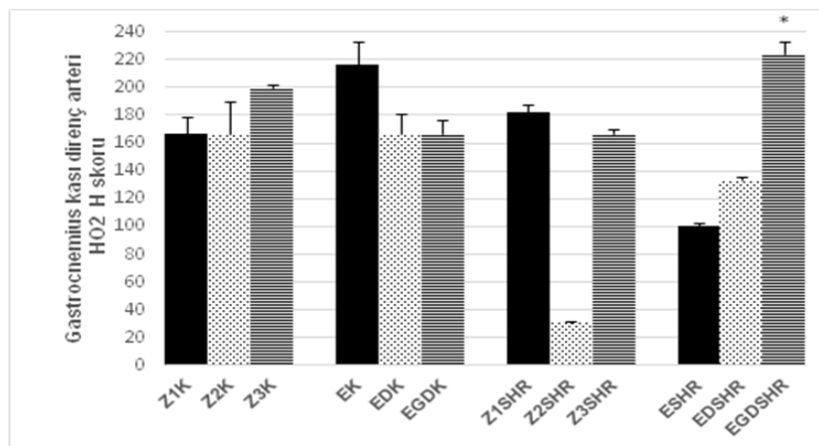
Şekil 4.26'da, gastrocnemius kası direnç arterinde grupların HO-1 için pozitif boyanan hücre yüzdeleri gösterilmektedir. Z1SHR ve Z2SHR gruplarının HO-1 immün boyanmasının Z1K ve Z2K gruplarından düşük, Z3SHR'nin ise Z3K'dan yüksek olduğu tespit edilmiştir. Uygulanan egzersiz protokolüyle HO-1 ekspresyonunda hem WKY hem de SHR'lerde artış saptanmıştır. 5 haftalık detraining süreci hem kontrol hem de hipertansif sıçanların HO-1 immün boyanmasında azalmaya, 10 haftalık detraining süreci ise artışa sebep olmuştur. Farklar istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir.

Şekil 4.27'de, grupların gastrocnemius kası direnç arterlerinde HO-2 için pozitif boyanan hücre yüzdeleri gösterilmektedir. EGDSHR grubunda HO-2 ekspresyonu immünohistokimyasal boyanma yüzdesinin ESHR'lerden istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (p=0,0001).



Şekil 4.26 Grupların gastrocnemius kasi direnç arterlerinde HO-1 H skoru.

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.



Şekil 4.27 Grupların gastrocnemius kasi direnç arterlerinde HO-2 H skoru.

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR. *p < 0,0001, ESHR'den fark

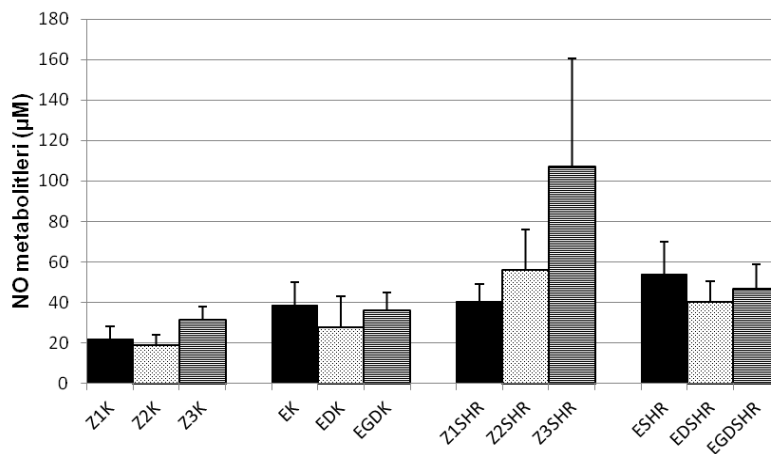
4.5. Western Blot Analizi Sonuçları

Eylül–Ocak 2015 tarihleri arasında yapılan yoğun çalışmalar sonucu damar segmentlerinde her dört proteine ait herhangi bir görüntü elde edilememiştir. Civardaki ilgili konuda çalışmalar yapmış laboratuvarlardan da destek alınmasına rağmen herhangi bir ilerleme kaydedilememiştir. Firmalarla yapılan görüşmeler sonucunda

özellikle primer antikorlarda sorun olabileceği sonucuna varılmış, bu konudaki çalışmalar sonlandırılmak zorunda kalmıştır.

4.6. Serum Nitrik Oksit Metabolitleri (NOx "nitrit+nitrat") Düzeyi Sonuçları

Hipertansif sıçanlarda serum NO metabolitleri düzeyi yaş-uyumlu kontrollerine göre yüksek bulunmuştur. Uygulanan egzersiz protokolü her iki sıçan grubunda serum NO metabolitleri (NOx "nitrit+nitrat") düzeylerinde hafif artışa sebep olmuştur. Farklar istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir (Şekil 4.28).

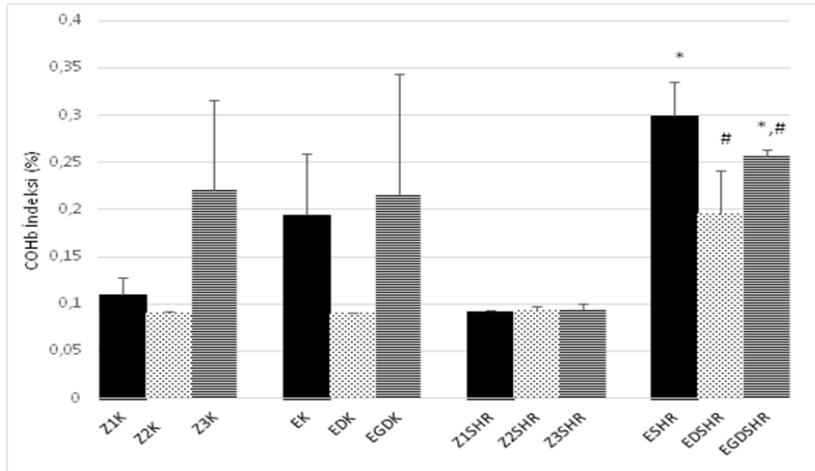


Şekil 4.28 Grupların serum NO metabolitleri (NOx "nitrit+nitrat") düzeyi.

Ortalama±SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR.

4.7. Kan Karboksihemoglobin İndeksi Sonuçları

Kan CO değerlerinin göstergesi olan kan COHb indeksi sonuçları Şekil 4.29'da verilmiştir. Hem normotansif, hem de hipertansif sıçanlarda egzersize yanıt olarak kan karboksihemoglobin indeksinde artış gözlenmiştir. Sonuçlar sadece SHR'lerde istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,0001$). Kontrol ve hipertansif sıçanlar arasında kan karboksihemoglobin indeksi açısından fark gözlenmezken, EDSHR grubunun COHb değerleri EDK grubuna, EGDSHR grubunun kan karboksihemoglobin indeksi değerleri ise EDK ve Z1SHR gruplarına göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksektir ($p < 0,0001$).



Şekil 4.29 Grupların kan karboksihemoglobin indeksi değerleri (%).

Ortalama \pm SH. Z1K: WKY Zaman 1 Kontrol, Z2K: WKY Zaman 2 Kontrol, Z3K: WKY Zaman 3 Kontrol, EK: WKY Egzersiz yapan Kontrol, EDK: WKY Egzersiz Detraining Kontrol, EGDK: WKY Egzersiz Geç Detraining Kontrol, Z1SHR: SHR Zaman 1, Z2SHR: SHR Zaman 2, Z3SHR: SHR Zaman 3, ESHR: Egzersiz yapan SHR, EDSHR: Egzersiz Detraining SHR, EGDSHR: Egzersiz Geç Detraining SHR. * $p < 0,0001$: Z1SHR'den fark; # $p < 0,0001$: EDK'dan fark.

5. TARTIŞMA

Hipertansiyon (HT) zamanla kalpte ve arterlerde geri dönüşümsüz değişikliklere yol açabilen, tüm dünyada en yaygın mortalite sebeplerinden biridir (Lewington vd 2002, Agarwal vd 2009, Androulakis vd 2009, Lehnen vd 2010). Patogenezinde endotelial disfonksiyon önemli bir yer tutmaktadır. NO ve CO endotelden salgılanan ve vazomotor tonusun düzenlenmesinde rol oynayan iki önemli vazodilatatör etkili mediatördür (Moncada vd 1991, Durante vd 2006). HT gelişiminin önlenmesi ve tedavisinde ilaç uygulamasına ek olarak büyük kas gruplarını içeren düşük ve orta şiddette aerobik egzersiz protokolleri de önemli bir yer tutmaktadır (Graham ve Rush 2004, Armstrong vd 2006, Sun vd 2008, Agarwal vd 2009). Ancak, egzersize başlayan bireyler arasında bir süre sonra çeşitli sebeplerle egzersizi bırakma (detraining) oranı çok yüksektir. Bu çalışma kapsamında, 8 haftalık SHR'lere 10 hafta boyunca yaptırılan orta şiddette aerobik yüzme egzersizini takiben uygulanan 5 (detraining) ve 10 haftalık (geç detraining) egzersizi bırakma periodlarının kan basıncı üzerine olası değişikliklerinde, endotelial fonksiyonun rolünün açıklanabilmesi amacıyla kan karboksihemoglobin (COHb) konsantrasyonları, serum NO metabolitleri düzeyleri, NO ve CO'nun sentezlerinde rol oynayan genlerin ekspresyonları incelenmiştir.

Çalışma süresince, sıçanların 2 haftada 1 vücut ağırlıkları, kalp hızları ve kan basınçları takip edilmiştir. Yapılan tüm ağırlık ölçümlerinde hipertansif sıçanların normotansiflere göre zayıf olduğu gözlenmiştir. 1 saat/gün yüzme egzersizi ilk ölçümden itibaren SHR'lerin vücut ağırlığında azalmaya neden olmuş, egzersizin hipertansif sıçanlar üzerindeki kilo verdirici etkisi 9. haftada ortadan kalkmıştır. Normotansif sıçanlarda ise kilo kaybı 9. haftada istatistiksel olarak önemli düzeye erişmiş ve egzersiz yapıldığı süre boyunca korunmuştur. Hipertansif sıçanların egzersizi bırakır bırakmaz hızla kilo aldıkları gözlenmiş, 15. haftada sedanterlerden istatistiksel olarak önemli düzeyde daha kilolu oldukları tespit edilmiştir. Kontrol sıçanlar da detrainingi takiben kilo almaya başlamış ancak deney süresince sedanter

kontrollerinden hep zayıf kalmışlardır. Bulgularımız hipertansiflerde egzersizle kilo kaybının hızlı olmasına karşın, egzersizi bırakır bırakmaz hızla kilo aldıklarını göstermektedir. Öte yandan, normotansiflerde egzersizin vücut ağırlığını azaltıcı etkisi yavaş ortaya çıkmakta, ancak egzersizi bırakınca uzun süre devam etmektedir. Egzersiz süresi kadar uygulanan detraining normotansif sıçanlarda verilen kiloların geri alınması için yeterli olmuştur.

Zamo ve arkadaşları, 8 ve 12 haftalık SHR'lere orta şiddette yüzme egzersizi uygulamış ve genç sıçanlarda egzersizin 6. haftadan itibaren bizim sonuçlarımıza benzer şekilde vücut ağırlığında azalmaya sebep olduğunu göstermişlerdir. Erişkin sıçanlarda (12 haftalık) ise fark tespit edilememiştir. Araştırmacılar HT'de egzersizin vücut ağırlığını azaltıcı etkisinin yaşa bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir (Zamo vd 2011). Bocalini ve arkadaşları normotansif sıçanlara; günde 60dk, haftada 5 gün, 8 hafta boyunca yüzme egzersizi uygulamışlar ve vücut ağırlığında azalma tespit etmişler ancak sadece 2 haftalık detraining süreciyle vücut ağırlığındaki azalmanın geri döndüğünü göstermişlerdir (Bocalini vd 2010). Bahsedilen çalışmanın sonuçları ile bizimkiler arasındaki farklılık, egzersiz süresinin önemini vurgulamaktadır. Egzersiz ne kadar uzun süreli yapılırsa bırakınca verilen kiloların geri alınmasının o kadar uzun süreceği ileri sürülebilir.

Çalışmamızda sedanter SHR'lerin, kalp hızları ilk haftadan itibaren yapılan tüm ölçümlerde sedanter normotansif sıçanlara kıyasla, egzersiz yapan SHR grubunun ise egzersiz yapan normotansif sıçanlara kıyasla daha yüksek seyretmiştir. Uygulanan egzersiz protokolünün hem kontrol hem de SHR'lerde kalp hızında azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir. Farklar WKY normotansif sıçanlar için 5. haftada, SHR'ler için 3. haftada istatistiksel olarak önemli bulunmuş olup literatürle uyumludur (Zamo vd 2011, Fernandes vd 2012, Barbosa Neto vd 2013, Gu vd 2013). Kontrol sıçanlarında, egzersiz eğitiminin kalp hızını azaltıcı etkisi 10 haftalık egzersizi bırakma süresince korunmuştur. Öte yandan, SHR gruplarında egzersizi bırakınca kalp hızı artmaya başlamış, 19. haftada sedanter grupta arasındaki fark ortadan kalkmıştır. Bocalini ve arkadaşları, yüzme egzersizi uyguladıkları kontrol sıçanlarında kalp hızında düşme gerçekleştiğini, bu azalmanın 2 haftalık detraining sonucu ortadan kalktığını saptamışlardır (Bocalini vd 2010). Bu sonuçlar bir kez daha egzersiz süresinin önemini vurgulamaktadır. Çalışmamız literatürde; SHR'lerde yüzme egzersizini bıraktıktan sonra haftalık kalp hızı değişimlerini inceleyen ilk çalışmadır.

SHR'lerin sistolik kan basınçları laboratuvarımıza ulaşmalarını takiben yaklaşık 3 hafta sonra yapılan ilk ölçümlerde sağlıklı sıçanlara göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ve bu fark deney sonuna kadar devam etmiştir. SHR'ler 11 haftalık olduklarında hipertansif hale gelmişler, bu haftadan sonra SKB'leri

ilerleyen haftalar boyunca artarak devam etmiştir. Bu durum literatürle uyumlu olarak yaşlanmayla beraber SKB'de oluşan artışı göstermektedir (Amenta vd 2003). Yüzme egzersizinin SKB üzerindeki olumlu etkisi SHR'lerde (7. hafta) normotansif sıçanlara göre (9. hafta) daha erken ortaya çıkmış ve daha belirgin şekilde gözlenmiştir. Pek çok araştırmacı tarafından fiziksel aktivitenin KB'yi düşürücü etkisi gösterilmiştir (Ishikawa-Takata vd 2003, Graham ve Rush 2004, Moraes-Teixeira vd 2010). Bu etkinin egzersize bağlı kalpte ve vasküler sistemde oluşan bazı fizyolojik adaptasyonlar (sempatik barorefleks duyarlılıkta artış, kapiller yoğunlukta artış ve endotelde NO-bağımlı vazodilatasyon artışı) sonucu ortaya çıktığı bilinmektedir (Graham ve Rush 2004). Literatür incelendiğinde, hem sağlıklı hem de HT açısından genetik olarak risk altında olan sıçanlarda egzersizin kan basıncı üzerindeki olumlu etkilerinin ortaya çıkmasında seçilen egzersizin tipi ve süresi kadar, egzersize başlama yaşının da çok önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Şöyle ki; 11-12 haftalık sıçanlara uygulanan 8 haftalık yüzme egzersizinin normotansif sıçanların SKB'lerini değiştirmezken, SHR'lerin SKB'sini 5. haftadan itibaren düşürdüğü gösterilmiştir. Egzersizin bu etkisi haftalar ilerledikçe daha belirgin hale gelmiştir (Gunduz vd 2011). Barbosa Neto ve arkadaşları ise 48 haftalık sıçanlara uyguladıkları 9 haftalık yüzme egzersizinin normotansif sıçanların SKB'sini değiştirmediğini, ancak hipertansif sıçanların SKB'sinin azaldığını bulmuşlardır. Son bahsedilen çalışmada haftalık kan basıncı izlemi yapılmamış olup azalmanın hangi haftada ortaya çıktığı gösterilememiştir (Barbosa Neto vd 2013). Bir başka çalışmada ise, 11 haftalık sıçanlar 6 hafta boyunca koşturulmuş, ne SHR ne de normotansiflerin SKB'sinde istatistiksel olarak önemli düzeyde azalma tespit edilememiştir. 6 haftalık koşu egzersizinin SKB'yi olumlu düzeyde azaltmak için yeterli olmadığı ileri sürülmüştür (Graham ve Rush 2004). Ek olarak, insan çalışmalarında da egzersizin olumlu etkileri belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada, evre 1 ve 2 esansiyel HT'if tedavi edilmemiş 207 bireyde 8 hafta boyunca yapılan egzersizin hipotansif etkisi gösterilmiştir (Ishikawa-Takata vd 2003).

Çalışmamız kapsamında, sağlıklı sıçanlarda yüzme egzersizinin SKB'yi azaltıcı etkisinin egzersizi bıraktıktan sonra 3 hafta içinde ortadan kalktığı gözlenmiştir. Öte yandan, SHR'lerde egzersizin SKB üzerindeki olumlu etkilerinin egzersizi bıraktıktan sonra daha uzun süre (5 hafta) korunduğu gözlenmiştir. Hipertansiflerde egzersize yanıt olarak ortaya çıkan kan basıncı azalmasının, egzersizin bırakılmasından sonra ne kadar süre ile devam edeceği sorusunun yanıtının net olarak alınabilmesi için, küçük bir grupta kan basıncı değişiminin ilerleyen detraining haftaları boyunca izlenmesine devam edilmesine karar verilmiştir. İlginç olarak, hiç egzersiz yapmayan ve egzersizi bırakan SHR'ler arasındaki farkın detrainingin 7. haftasında ortadan kalktığı, 10. haftasında ise egzersizi bırakan SHR'lerin kan basıncının hiç

egzersiz yapmamış SHR'lerle tamamen aynı düzeye eriştiği gözlenmiştir. Çalışmamızın sonuçları hipertansiflerde egzersizle elde edilen kan basıncı düşüşünün geri dönmesi için egzersiz süresine eşit bir detraining süreci (10 hafta) geçmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

SHR'lerde yüzme egzersizini takiben detraining uygulayıp kan basıncı değişimlerini inceleyen bizimki dışında bir çalışmaya rastlanmamıştır. Carneiro-Junior ve arkadaşları, 4 aylık SHR'lere 8 hafta boyunca uyguladıkları ilerleyici koşu egzersizi ve izleyen 4 haftalık bir detraining periodunun hem SHR hem de normotansif sıçanlarda kan basıncında istatistiksel olarak önemli bir değişikliğe sebep olmadığını göstermişlerdir. Araştırmacılar 8 haftalık egzersiz periodunun kan basıncını düşürmek için yeterli bir süre olmadığını ileri sürmüşlerdir (Carneiro-Junior vd 2010). Lehnen ve arkadaşları ise 10 haftalık koşu bandı egzersizinin SHR'lerde kan basıncını düşürdüğünü, ancak 1 ve 2 haftalık egzersiz bırakma süreci ile WKY ve SHR'lerde kan basıncında egzersizle gözlenen azalmanın geri dönmediğini göstermişlerdir. Bizim bulgularımıza benzer şekilde, uygulanan detraining periodlarının egzersizle oluşturulan kardiyorespiratuar ve metabolik değişiklikleri geri çevirmek için yeterli olmadığı ifade edilmiş, bu durumun da kısmen egzersizin sebep olduğu dinlenme bradikardisinin detraining periodunda gecikmiş kaybına bağlı olabileceğini ileri sürülmüştür (Lehnen vd 2010). Çalışmamızda uygulanan yüzme egzersizi süresi Lehnen ve arkadaşlarının çalışmasına benzer olup (10 hafta), detraining süreci daha uzun tutularak (5 ve 10 hafta) egzersize ara verme sürecinin uzatılması durumunda kan basıncında gözlenecek olası değişimler incelenmiş ve WKY sıçanlarda SKB'nin detraining'in 3. haftasında, SHR'lerde ise 7 haftasında geri döndüğü gözlemlenmiştir. Egzersizin bırakılmasına cevaben gözlenen kan basıncı artışları; kalp debisi, dinlenme kalp hızı ve periferik damar direncinin egzersiz öncesi değerlere dönmesine bağlanabilir (Pavlik 1985).

Deney gruplarımızda egzersiz-detraining-geç detraining süreçlerinde gözlenen kan basıncı değişikliklerinin açıklanmasında endotelin rolü, endotelden salınan iki önemli vazodilatatör olan NO ve CO metabolizması üzerinden incelenmiştir. Bu amaçla, daha küçük gruplarda (n=3-5) kan karboksihemoglobin (COHb) konsantrasyonu, serum NO metabolitleri NOx (nitrit+nitrat) düzeyleri, ayrıca NO ve CO'nun sentezlerinde rol oynayan genlerin ekspresyonları da değerlendirilmiştir. Bu parametrelere ait verilerde yer yer birbiriyle uyumlu azalma ve artmaların gözlenmesine rağmen, istatistiksel olarak önemli düzeye erişmemesinde "n" sayılarının azlığı önemli bir etken olabilir. Bu durum çalışmamızın sınırlılığını yansıtmaktadır. Ancak literatür incelendiğinde mRNA ekspresyonu ve immünohistokimyasal boyama verilerinde "n" sayılarının bizimkinden pek farklı olmadığı da göze çarpmaktadır. Kan

karboksihemoglobin (COHb) konsantrasyonu, serum NO metabolitleri NOx (nitrit+nitrat) düzeyleri, ayrıca NO ve CO'nun sentezlerinde rol oynayan genlerin ekspresyonlarını incelemek için çapı yaklaşık 2-2,5 mm arasında değişen aort ve çapı 200-240 µm kadar olan gastrocnemius kası direnç arteri seçilmiştir. Direnç damarları arteryel kan basıncının doku düzeyine inmeden düşürüldüğü en önemli basamak olup hem doku kan akımına etkisi hem de sistemik kan basıncını düzenlemedeki rolü yönünden kritik öneme sahiptirler (Ülker 2011).

NO ile kan basıncı ilişkisi literatürde yoğun olarak çalışılmıştır (Radomsky ve Moncada 1993, Török 2008, Versari vd 2009, Cui vd 2013). Yapısal form olan eNOS'un düz kasların gevşemesi, kan basıncı ve kan akım hızının düzenlenmesi ile vasküler tonusun düzenlenmesinde rol aldığı iyi bilinmektedir (Alderton vd 2001, Versari vd 2009). Bununla beraber NO salınımı, biyoyararlanımı, NO'ya damar gevşeme yanıtındaki değişikliklerin HT'nin nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu halen tartışmalıdır (Cui vd 2013, Puzserova vd 2013). SHR'lerin aortlarında eNOS ekspresyonlarının kontrollere göre düşük olduğu ancak mezenterik arter gibi daha küçük damarlarda kontrol sıçanlarınkinden farklı olmadığı gösterilmiş, büyük arterlerde NO salınımindaki azalma ve/veya biyoyararlanımındaki bozuklukların KB artışına neden olabileceği düşünülmüştür (Shimokawa vd 1996, Török 2008, Puzserova vd 2013). NO'nun vazorelaksasyon etkisinin damar çapına bağlı olarak değişebileceği, aortta vazodilatasyonun büyük oranda NO bağımlı olduğu, küçük direnç arterlerinde endotel fonksiyon bozukluklarında EDHF'lerin ön plana çıktığı, dolayısıyla HT'ye yanıt olarak değişik dokularda NOS3 ekspresyon düzeylerinin birbirinden farklı etkilendiği ileri sürülmektedir (Bauersachs vd 1998, Puzserova vd 2013). Başka bir çalışmada SHR'lerde koroner arterlerde eNOS ekspresyonu azalırken aortta önemli bir azalma gösterilememiş ancak tüm damar tiplerinde vazodilatatör disfonksiyon saptanmıştır (Bouloumie vd 1997). HT'yle artan oksidatif stresin de NO salınımindaki azalmaya neden olabileceği, HT'de NO üretimindeki bozukluğun, genellikle substrat yetersizliğinden çok, sentez bozukluğu ve yıkım fazlalığı yönünde olduğu ileri sürülmüştür (Török 2008). Ülker ve arkadaşları ise SHR'lerde erken evrede aort eNOS ekspresyonu ve NO üretiminde artış ve buna rağmen NO'ya verilen vazodilatatör yanıtta azalma gözlemlenmiş; bu durumu NO'nun O₂⁻ ile oksidasyonu ve yıkımı ile açıklamışlardır (Ulker vd 2003). Bizim bulgularımız yukarıda özetlenen çalışmaların bulgularıyla kısmen uyumlu olup, sadece Z2SHR grubunda aort NOS3 immün boyanma özelliğinin kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olduğunu göstermektedir. Bunun dışında aort ve gastrocnemius kası direnç arteri eNOS relatif mRNA ekspresyonu ve immünohistokimyasal boyanma özellikleri açısından SHR ile kontrol sıçanlar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilememiştir.

Çalışmamızda yüzme egzersiziyle SHR ve kontrol sıçanlarda aort ve gastrocnemius kası direnç arteri eNOS ekspresyonlarında istatistiksel olarak önemli düzeyde değişiklik saptanmamıştır. Literatürde düzenli fiziksel aktivitenin damar endotelinde eNOS gen ekspresyonunu arttırdığını bildiren çalışmaların yanı sıra, hem normotansif hem de hipertansiflerde egzersize bağlı olarak eNOS ekspresyonunun başlangıçta arttığı, ancak bu artışın zamana bağlı olarak ortadan kalktığına dair kanıtlar da mevcuttur. Başka bir ifade ile egzersize bağlı kan basıncındaki erken dönem azalma NO üretimindeki artışa, uzun dönem azalma ise vasküler yeniden şekillenme (remodelling)'e bağlanmaktadır (Kingwell vd 1997, Sun vd 2013, Boa vd 2014, Yang vd 2014). Kısa ve orta süreli (2-4 hafta) egzersizle iskelet kası arteriyollerinde eNOS ekspresyonunda artış saptanmış ancak 16 haftalık uzun süreli egzersizde bu etkinin ortadan kalktığı gösterilmiştir (Sun vd 1994, Johnson ve Laughlin 2000). Yine uzun süreli egzersiz eğitimine cevaben vasküler remodelling geliştiği tespit edilmiştir (Brown 2003, Leung vd 2008, Roque vd 2013). Çalışmamızda 10 haftalık yüzme egzersizi uygulanmıştır. Egzersiz periyodunun daha erken dönemlerinde eNOS ekspresyonu incelenmiş olsaydı, literatüre benzer artışlar saptama şansı olabilirdi. 10 haftalık süre sonunda yukarıda bahsedilen uzun dönem egzersiz uygulayan çalışmaların sonuçlarına benzer şekilde eNOS ekspresyonunun değişmediği tespit edilmiştir.

Toplumumuzda özellikle bugünkü orta yaş kuşağında düzenli olarak egzersiz yapma kültürü yerleşmemiştir. Bu sebeple egzersize başlandıktan belli bir süre sonra sıklıkla bırakılmaktadır (detraining). Literatürde herhangi bir HT modelinde detraining periyodunun eNOS ekspresyonu üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bulgularımız hem kontrol hem de hipertansif sıçanlarda her iki damar dokusunda (aort, gastrocnemius kası direnç arteri) egzersizi bırakmaya cevaben eNOS relatif mRNA ekspresyonunda değişiklik oluşmadığını, buna karşın normotansif sıçanlarda hem aort hem de gastrocnemius kası direnç arteri eNOS immünohistokimyasal boyanma özelliklerinde istatistiksel önemlilik oluşturmayan zamana bağlı azalma olduğunu göstermektedir. Bu azalma WKY'lerde egzersizi bırakınca gözlenen kan basıncı artışı ile uyumludur. Zıt olarak, SHR'lerde 10 hafta süresince egzersizin bırakılmasına yanıt olarak gastrocnemius kası direnç arteri eNOS immün boyanmasında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış tespit edilmiştir. Bu artışın sebebi mevcut bilgilerle açıklanamamaktadır.

Bu çalışmada aort ve gastrocnemius kası direnç arterinde ekspresyon düzeyi incelenen bir diğer protein indüklenebilir NOS formu olan iNOS'dur. Literatürde SHR'lerde iNOS ekspresyonunun kontrol sıçanlardan fazla olduğu gösterilmiş ve SHR'lerde iNOS ekspresyon seviyelerindeki artışla, NO sentezindeki eNOS'a bağlı azalmanın kompanse edilmeye çalışılıyor olabileceği ileri sürülmüştür (Cheng vd 2004,

Fernandes vd 2012). Bununla beraber, bizim çalışmamızda her iki damarda da iNOS relatif mRNA ekspresyonu açısından hipertansif sıçanlarla kontrol sıçanlar arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde fark saptanmamış, aort iNOS H skorunun Z2SHR grubunda Z2K'ya göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Egzersize bağlı iNOS ekspresyonundaki değişimlerle ilgili literatürde birbiriyle çelişkili sonuçlar mevcut olup, detraining sürecinde ise bu proteinin ekspresyonunun nasıl etkilendiği bilinmemektedir (Sun vd 2008, Agarwal vd 2009, Kuru vd 2009). Sun ve arkadaşları 2 aylık sıçanlara VO_{2max} 'ın %50'sinde 6 haftalık koşu bandı egzersizi yaptırmış ve aort iNOS ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (Sun vd 2008). Agarwal ve arkadaşları ise 7 haftalık sıçanlarda 16 hafta boyunca aerobik egzersiz uygulamasının normotansif sıçanların kalp kasında iNOS ekspresyonunu etkilemezken, SHR'lerde miyokardial iNOS protein ekspresyonunu azalttığını tespit etmişlerdir (Agarwal vd 2009). Öte yandan Kuru ve arkadaşları L-NAME HT modelinde 6 haftalık yüzme egzersizinin gastrocnemius kasında iNOS mRNA ekspresyonunda değişiklik oluşturmadığını belirlemişlerdir (Kuru vd 2009). Bizim çalışmamızın sonuçları da, Kuru ve arkadaşlarınınki ile uyumlu olarak WKY ve SHR'lerin her iki arterinde de egzersizle iNOS ekspresyonunda değişim oluşmadığını göstermektedir. Benzer şekilde, iNOS ekspresyonu detraining sürecinden de etkilenmemiştir. Literatürdeki çelişkili sonuçlar egzersize başlangıç yaşı, uygulanan egzersizin tipi, süresi ve şiddeti aynı zamanda incelenen doku tipine bağlı olabilir.

Çalışmamız kapsamında eNOS ve iNOS mRNA ekspresyonu, doku düzeyinde bu iki proteine ait immün boyanma özelliklerine ek olarak, serum NO metabolitleri düzeyi de incelenmiştir. Ölçülen NO metabolitleri konsantrasyonları tüm vücuttaki durumu gösterdiği için damarlardan elde edilen NOS ekspresyonu sonuçlarını bire bir yansıtması beklenemez. Ek olarak, serum NOx düzeylerinin enfeksiyonlar, beslenme, diyet gibi bazı fizyolojik koşullardan da etkilendiği bilindiğinden, eNOS ve iNOS genlerinin serum NO metabolitleri üzerindeki gerçek etkisi de maskelenmiş olabilir (Hord vd 2009). Hipertansif sıçanlarda serum NO metabolitleri düzeyi yaş-uyumlu kontrollerine göre yüksek bulunmuştur. Farklar istatistiksel olarak önemli düzeye erişmemiştir. SHR'lerde NO'nun rolü hala tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar NO fonksiyonlarında kontrole göre azalma (Lüscher and Vanhoutte 1991), bazıları ise artış (Chen and Hu 1997) bildirirken bir kısmı değişiklik olmadığını (Török and Kristek 2001) ifade etmişlerdir. 4-14 haftalık SHR'lerde, HT gelişirken plazma NO metabolitleri düzeyinin giderek arttığı gösterilmiştir (Chou vd 1998). Yaşla beraber plazma nitrat seviyelerini değerlendiren başka bir çalışmada, genç WKY ve SHR (3-4 haftalık)'ler arasında fark bulunmazken, yetişkin dönemde (18-25 haftalık) her iki grup arasında anlamlı fark bulunmuştur. İleri yaştaki WKY ve SHR'lerin plazma nitrat seviyeleri

arasında fark bulunamazken, her iki grupta da yaşlılık döneminde kendi erişkin dönemlerine göre plazma nitrat konsantrasyonunun çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sonuçta SHR'lerde plazma nitrat seviyeleri yaşla beraber giderek artmış ve hatta WKY'lerden bile yüksek bulunmuştur. KB yükselmesine rağmen NO üretiminde oluşan artış damar duvarındaki kayma kuvveti "shear stress" ile açıklanmıştır (Llorens vd 2007). Bizim çalışmamızda özellikle SHR'lerde izlenen NO metabolitleri seviyesindeki zamana bağlı artış yukarıda özetlenen çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir. Benzer şekilde, Cheng ve arkadaşları, 12 ve 16 haftalık SHR'lerde plazma nitrit/nitrat seviyesinin de WKY'lerden yüksek olduğunu bulmuşlardır (Cheng vd 2004).

Egzersizin normal vazomotor tonusunun korunması ve kan akışkanlığının sağlanmasına katkıda bulunarak endotelial disfonksiyonu iyileştirdiği, böylece kayma geriliminde artışla NO üretimini uyardığı iyi bilinmektedir (Sherman 2000). Gerek sağlıklı gerek HT'if insan ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda egzersiz eğitiminin endotel bağımlı NO aracılı damar gevşemesindeki iyileştirici etkisi gösterilmiştir (Kingwell vd 1996, Delp ve Laughlin 1997). Bizim çalışmamızda da istatistiksel olarak önemli düzeyde farklı bulunamamış olsa da, kesim gününde (sıçanlar 19 haftalıkken) egzersiz yapan grupların kendi kontrollerine göre plazma NO metabolitleri seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, Gu ve arkadaşları 10 haftalık SHR'lerde 8 hafta boyunca koşu bandı egzersizi uygulamışlar ve aortta endojen NO üretiminin arttığını ancak eNOS protein ekspresyonunda değişiklik olmadığını bildirmişlerdir (Gu vd 2013). HT'if ratlarda, orta ve yüksek şiddetli aerobik egzersiz eğitimiyle ROS üretiminin azaldığı ve NOS aktivitesinin arttığı böylece vasküler fonksiyonun iyileştirildiği bildirilmiştir (Yang vd 2011, Roque vd 2013). SHR'lerde 10 hafta orta şiddette koşu bandı egzersiziyle oksidatif stres azalması ve NO biyoyararlanımının artışı sağlanmıştır (Bertagnoli vd 2008). Bu bilgiler ışığında, fizyolojik durumlarda düşük konsantrasyonlardaki ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS)'nin endotele bağlı vazodilatasyona katkıda bulunabildiği söylenebilir (Campos vd 2013).

Egzersizin 5 hafta boyunca bırakılması hem WKY hem de SHR'lerde serum NO metabolitleri (nitrit+nitrat) düzeylerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde olmasa da hafif azalmaya sebep olmuş, ancak 10 haftalık detraining sonucunda yine artış saptanmıştır. Egzersiz yapmayan gruplarda da 10. haftada benzer yaşa bağlı artışlar gözlenmiştir. Literatürdeki egzersiz bırakmaya cevap olarak NO metabolitleri (nitrit+nitrat) düzeylerini inceleyen tek çalışmada Maeda ve arkadaşları, 8 sağlıklı genç erkek bireyde bisiklet ergometresinde VO_{2max} 'in %70'i şiddetinde günde 1 saat, haftada 3-4 gün ve 8 hafta boyunca egzersiz uygulamışlar ve plazma NOx konsantrasyonunun

egzersiz sonrası arttığını ve bu artışın 4 haftalık detraining ile korunduğunu ancak 8 haftalık detraining sürecinde bazal seviyeye geri döndüğünü göstermişlerdir (Maeda vd 2001). Sonuçları özetlenen çalışmalar arasında kullanılan canlı türü, uygulanan egzersizin sıklığı, egzersiz ve detraining süreleri açısından fark vardır. SHR'lerde detraining sürecinin serum NO metabolitleri (nitrit+nitrat) konsantrasyonuna etkisini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

CO'nun, direk vazodilatatör etkisinin yanı sıra miyojenik uyarılara ve konstrüktör agonistlere damar düz kasının duyarlılığını azaltarak anti-hipertansif mekanizmalara katkıda bulunduğu bilinmektedir. CO, periferik etkilerinin yanında merkezi sinir sisteminden sempatik çıkışı azaltarak da kan basıncının düşürülmesinde rol oynamaktadır (Durante vd 2006, Stec vd 2008). CO'nun NO için bir yedekleme (back up) molekülü olduğu ileri sürülmektedir. HT'de NO sistemi etkilendiğinde, kan basıncı kontrolünün, CO tarafından, HO gen ekspresyonundaki artışla sağlandığı gösterilmiştir (Ushiyama vd 2002). Doku NO seviyesi düşük olduğu zaman CO'nun sGC yolağını aktive ederek ve NO seviyesi yüksek olduğunda ise, CO'nun sGC yolağını inhibe ederek kan basıncını düzenlediği gösterilmiştir (Kajimura vd 2003). CO eksikliği; periferik direnç ve oksidatif stres artışına, vasküler düz kas hücrelerinin apoptozisi ve proliferasyonuna neden olur ve böylece NO ile arasındaki ilişki bozularak kan basıncı yükselebilir (Ndisang vd 2004). Bu bilgiler ışığında, SHR ve normotansif sıçanlarda egzersiz ve onu izleyen egzersizi bırakma sürecinde endotelial fonksiyonların değerlendirilebilmesi için çalışmamız kapsamında CO sentezinde rol oynayan HO-1 ve HO-2 gen ekspresyonları ve kan COHb indeksi de incelenmiştir.

HO-2 kan damarlarının endotel ve düz kas hücre tabakasından yapısal olarak salınıp, CO oluşturarak vasküler tonusu düzenler (Ndisang vd 2004). Aort ve gastrocnemius kası direnç arterinde HO-2 ekspresyonu doku düzeyinde incelendiğinde aortta HO-2 immünohistokimyasal boyanma özelliğinin hipertansif sıçanlarda kontrollere göre düşük olduğu saptanmıştır. Fark Z1SHR-Z1K grupları arasında istatistiksel olarak anlamlıdır. Aort, kanı direk olarak kalpten dokulara ileten damar olup, HT'de vazodilatatör bir mediatör olan CO'nun bu damarda yapısal olarak sentezinin azaldığının gösterilmesi HT patogenezi açısından önem arz etmektedir. SHR'lerde aort ve gastrocnemius kası direnç arteri HO-2 relatif mRNA ekspresyonunda da hafif düşüşler gözlenmiş olup istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır. Literatürde 5-12 haftalık SHR'lerde; aort ve pulmoner arterde HO-2 ekspresyonunun düşük olduğu, 12 hafta üzeri erişkin SHR'lerde ise aynı yaştaki kontrol sıçanlardan yüksek olduğu gösterilmiştir. Aynı damarlarda yaşla beraber sGC/cGMP yolağının da aktivitesinin arttığı bulunmuştur (Ndisang vd 2004). Bizim sıçanlarımızda ölçüm sırasıyla, 19 (Z1SHR), 24 (Z2SHR) ve 29 (Z3SHR) haftalık sıçanlarda yapılmış ve SHR'lerin

aortunda HO-2 ekspresyonunda hem immünohistokimyasal olarak hem de relatif mRNA düzeyi açısından yaşa bağlı artış tespit edilmiştir. İlerleyen yaşla beraber belirgin KB artışı gözlenen SHR'lerde aort gibi ana bir arterde yapısal HO-2 ekspresyonu ve dolayısıyla CO sentezi ve etkinliğinin artışı HT'ye karşı kompensatuar bir mekanizma olarak düşünülebilir. Bununla birlikte, gerek genç gerekse erişkin SHR'lerle WKY'ler arasında bir direnç arteri olan mezenterik arterde HO-2 ekspresyonunun farklı olmadığını gösteren bir çalışmanın bulguları bizim sonuçlarımızı desteklemektedir (Ndisang vd 2002).

HO-2 genel anlamda çevresel stresle aktive olmayan, temel olarak adrenal glukokortikoidlere yanıt veren HO tipi olarak bilinmektedir (Maines 1997, McCoubrey vd 1997, Maines ve Panahian 2001). Buna rağmen 2 aylık Sprague-Dawley sıçanlarda VO_{2max} 'in %50'sinde 6 haftalık koşu bandı egzersiziyle aort'da HO-1'e ek olarak HO-2 ekspresyonlarının da arttığı gösterilmiştir (Sun vd 2008). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde, 10 haftalık yüzme egzersizine cevap olarak SHR'lerin aort HO-2 relatif mRNA ekspresyonu ve immünohistokimyasal boyanma özelliklerinde istatistiksel olarak önemli düzeye erişmeyen bir artış gözlenmiş, diğer doku ve sıçan gruplarında değişiklik tespit edilmemiştir.

CO sentezinde rol oynayan bir diğer enzim indüklenebilir form olan HO-1'dir. HO-1 antioksidan ve antiinflamatuvar etkili olup, dokuları oksidan hasara ve inflamasyona karşı korumaktadır (Juhász vd 2011, Kertesz vd 2013, Szalai vd 2014). HO-1'in bilinen indükleyicileri arasında duvar kayma kuvveti (shear stress), NO, stres faktörleri ve egzersiz sayılabilir (Thompson vd 2005, Ryter vd 2006, Bauer ve Pannen 2009, Leffler vd 2011). Literatürde SHR'lerde olduğu gibi pekçok HT modelinde (Ach-ile indüklenen HT, DOCA-tuz HT, Dahl-Rapp-tuz duyarlı HT) vasküler HO-1 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Aizawa vd 2000, Li ve Shah 2004). Benzer şekilde, SHR'lerde HO-1 protein ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak artış gösterdiği, HO-1 artışıyla beraber anjiogenezin de arttığı bildirilmiştir (Sabawy vd 2001). SHR vasküler endotel hücrelerinin çevresinde ve içinde artmış süperoksit radikallerinin olduğu ve iskelet kası arteriyollerinde artmış kayma kuvvetinin bulunduğu bir HT modeli olarak bilinmektedir (Nakazono vd 1991). Ushiyama ve arkadaşları SHR'lerde aortta kayma kuvveti ile indüklenebilen HO-1 gen ekspresyonlarında artış göstermişler ve bunun kan basıncının kompanzasyonuna yönelik olduğunu ileri sürmüşlerdir (Ushiyama vd 2002). Çalışmamızda SHR'lerin aortlarında başlangıç (zaman 1) HO-1 gen ekspresyonu ve immün boyanma özelliğinin WKY'lere göre hafif yüksek olduğu saptanmıştır. Kalpte ve iskelet kaslarında kan akımının ve carotid arterde kayma kuvvetinin SHR'lerde normotansiflerden yüksek olduğu bilinmektedir. Yüksek kan basıncı iskelet kası arteriyollerinde kayma kuvvetini artırarak süperoksit

üretiminde artışa sebep olur (Huang vd 1998). Bu durum SHR'lerde HO-1 ekspresyonunun kontrol sıçanlardan fazla olmasını açıklar. Ek olarak, uygulanan yüzme egzersizine cevaben aortta SHR'lerde; gastrocnemius kası direnç arterinde ise hem WKY hem de SHR'lerde, HO-1'e ait pozitif boyanan hücre yüzdesinde artış gözlenmiştir. İstatistiksel olarak önemli düzeyde olmasa da bu artışlar, literatür verileriyle uyumludur (Essig vd 1997, Hildebrandt vd 2003, Thompson vd 2005).

Literatürde egzersizi bırakma sürecinde HO-1 ve HO-2 ekspresyon değişimlerine yönelik herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda, EGDSHR grubunda gastrocnemius kası direnç arterinde HO-2 açısından pozitif boyanan hücre yüzdesinin ESHR grubundan istatistiksel olarak önemli düzeyde fazla olduğu tespit edilmiştir. EDSHR grubunda ise aortta egzersizle artmış olan HO-1'e ait immün boyanma özelliklerinin egzersizin bırakılmasını takiben 5. haftada azaldığı ve ESHR grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu gösterilmiştir. Bu verilerin dışında detraining sürecinde HO-1 ve HO-2 ekspresyonlarında istatistiksel olarak önemli düzeyde değişiklik izlenmemiştir.

HO-1 ve HO-2 gen ekspresyonlarındaki değişimlerin ürüne yansıma düzeyinin değerlendirilebilmesi için kan COHb konsantrasyonları da ölçülmüştür. Şüphesiz gen ekspresyonları sadece iki damarda incelenirken, kan COHb konsantrasyonu tüm vücuttaki CO düzeyini yansıtacağından, bahsedilen iki parametredeki değişimin birbirini direk karşılaması beklenemez. Çalışmamızda, istatistiksel olarak önemli düzeyde fark bulunamamış olsa da, kesim gününde (sıçanlar 19 haftalıkken) sedanter SHR'lerin kan COHb konsantrasyonları kendi kontrollerine göre düşük bulunmuştur. Bu veri hipertansif sıçanlardaki yapısal HO-2 gen ekspresyonundaki azalmayla açıklanabilir. Ek olarak, çalışmamızda kan COHb konsantrasyonundaki azalma ile eş zamanlı serum NOx düzeyinde artış saptanmıştır. NO/CO sisteminin kompensatuar olarak çalıştığı, NO'nun artmış olmasının, direk olarak HO-2'nin katalitik aktivitesini baskıladığı bilinmektedir (Leffler vd 2011). Bizim verilerimiz de CO'nun SHR'lerde NO için bir yedekleme molekülü olarak fonksiyon gördüğü savını desteklemektedir. Literatürde de SHR'lerde yaklaşık 20. haftaya kadar damar düz kasında CO düzeylerinin düşük olduğu ifade edilmektedir (Ndisang vd 2004, Lee ve Yen 2009). Öte yandan Johnson ve arkadaşlarının, kan COHb seviyeleri açısından 10-12 haftalık SHR ve WKY sıçanları karşılaştırdıkları çalışmada gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Johnson vd 2004).

Bulgularımız, uygulanan yüzme egzersizinin hem hipertansif hem de normotansif sıçanlarda kan COHb indeksinde artışa sebep olduğunu göstermektedir. Bununla beraber, SHR'lerdeki artış daha belirgin olup istatistiksel olarak önemli düzeydedir. Literatürde egzersiz ve takiben uygulanan detraining süreçlerinde kan

COHb düzeylerinin incelendiği başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla beraber, Goldblatt HT modelinde 10 haftalık koşu egzersiziyle K⁺ kanal aktivasyonu ve buna bağlı vazodilatatör etki olduğu gösterilmiştir (Boissiere vd 2006). Egzersizin K⁺ kanal aktivesindeki etkisi HT'ye özgü görünmektedir çünkü egzersizle sağlanan CO-bağımlı vazodilatasyon etkisi normotansiflerde gösterilememiştir (Boisseire vd 2006). CO'nun damar düz kasında hiperpolarizan etkisini cGMP üretimine ek olarak K⁺ kanal aktivasyonu üzerinden de gösterdiği bilinmektedir. Egzersiz eğitimiyle HT'if sıçanlarda artan CO'nun, K⁺ kanal aktivasyonu ve vazodilatasyona neden olabileceği ileri sürülebilir (Ndisang vd 2004). Kan COHb düzeylerindeki artışların 5 hafta süresince egzersizin bırakılmasıyla azalmaya başladığı, takip eden 5 hafta içinde ise yeniden arttığı gözlenmektedir. Egzersizle indüklenen HO formu olan HO-1 immünohistokimyasal boyanma özelliklerinde de benzer değişimler gözlenmektedir.

Çalışmamızın sonuçları uzun süreli (10 hafta) orta şiddette aerobik yüzme egzersizinin hem sağlıklı hem de hipertansif sıçanlarda kan basıncını azalttığını, 5 hafta boyunca egzersiz bırakıldığı taktirde sağlıklı sıçanlarda kan basıncı hemen yükselirken, hipertansiflerde egzersizle elde edilen kan basıncı düşüşünün geri dönmesi için egzersiz süresine eşit bir detraining süreci (10 hafta) geçmesi gerektiğini göstermiştir. Egzersiz bırakılınca verilen kilolar hemen alınmaktadır. Gerek egzersizin kan basıncı üzerindeki olumlu etkilerinin ortaya çıkmasında, gerekse detraining periodunda bu olumlu etkilerin geri dönmesinde NO ve CO'nun *-kısmen de olsa-* aracılık ettiği görülmektedir. SHR'lerde egzersiz-detraining süreçlerine yanıt olarak meydana gelen sistolik kan basıncı değişiminde endotele ait mekanizmaların tam olarak anlaşılabilmesi için diğer endotelyal mediatörleri de içeren daha ileri çalışmalara gereksinim vardır. Çalışmamızın sonuçları göz önüne alındığında, hem sağlıklı, hem de genetik olarak hipertansiyona yatkın bireylere orta şiddette aerobik egzersiz yapmaları ve kısa süreli molalar dışında bırakmamaları önerilebilir.

6. SONUÇLAR

1. Hipertansif sıçanların sağlıklılarından zayıf olduğu tespit edilmiştir.
2. SHR'lerde egzersizle kilo kaybı hızlıdır; ancak bu sıçanlar egzersizi bırakır bırakmaz hızla kilo almaktadırlar. Normotansiflerde egzersizin vücut ağırlığını azaltıcı etkisi yavaş ortaya çıkmakta, ancak egzersizi bırakınca uzun süre devam etmektedir. Egzersiz süresi kadar uygulanan detraining normotansif sıçanlarda verilen kiloların geri alınması için yeterli olmuştur.
3. SHR'lerin, kalp hızları ilk haftadan itibaren normotansif sıçanlardan, yüksek seyretmiştir. Egzersiz yapan gruplarda da benzer sonuçlar alınmıştır. 10 haftalık yüzme egzersizi kalp hızında azalmaya sebep olmuştur. Kontrol sıçanlarında, egzersiz eğitiminin kalp hızını azaltıcı etkisi 10 haftalık egzersizi bırakma süresince korunurken, SHR'lerde egzersizi bırakınca kalp hızı hızla artmıştır.
4. SHR'lerde yaşlanmayla beraber sistolik kan basıncı (SKB) artmakta, WKY'lerde SKB'de yaşa bağlı önemli bir değişim gözlenmemektedir.
5. Uygulanan egzersiz protokolünün SKB üzerindeki olumlu etkisi SHR'lerde daha erken ortaya çıkmış ve daha belirgin şekilde gözlenmiştir.
6. Sağlıklı sıçanlarda yüzme egzersizinin SKB'yi azaltıcı etkisi egzersizi bıraktıktan sonra daha erken ortadan kalkmaktadır. Hipertansiflerde egzersizle elde edilen kan basıncı düşüşünün geri dönmesi için egzersiz süresine eşit bir detraining süreci (10 hafta) geçmesi gerekmiştir.
7. Z2SHR grubunda aort NOS3 ekspresyonunun kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek, NOS2'nin ise düşük olduğu gözlenmiştir. Egzersizle eNOS ve iNOS ekspresyonunda değişiklik saptanmamıştır. iNOS ekspresyonu detraining sürecinden de etkilenmemiştir.
8. Normotansif sıçanlarda egzersizi bırakmaya cevaben hem aort hem de gastrocnemius kası direnç arteri eNOS ekspresyonunda zamana bağlı azalma gözlenmiştir.
9. Hipertansif sıçanlarda serum NO metabolitleri düzeyi yaş-uyumlu kontrollerine göre yüksek bulunmuş ve yaşla beraber giderek arttığı tespit edilmiştir.
10. Egzersiz plazma NO metabolitlerinde istatistiksel olarak önemli düzeye erişmeyen artışlara neden olmuştur.

11. Egzersizin 5 hafta boyunca bırakılması serum NOx düzeylerinde hafif azalmaya sebep olmuş, ancak 10 haftalık detraining sonucunda yine artış saptanmıştır.
12. Egzersiz yapmayan gruplarda da NOx konsantrasyonlarında 10. haftada benzer, yaşa bağlı artışlar gözlenmiştir.
13. HO-2 ekspresyonunun hipertansif sıçanlarda düşük olduğu saptanmıştır. Fark Z1SHR-Z1K grupları arasında istatistiksel olarak anlamlıdır. SHR'lerin HO-1 ekspresyonu ise yüksek bulunmuştur.
14. SHR'lerin aort HO-2 ekspresyonunda yaşa bağlı artış tespit edilmiştir.
15. Egzersiz, SHR'lerin aortta HO-1 ve HO-2, gastrocnemius kası direnç arterinde ise hem WKY hem de SHR'lerde HO-1 ekspresyonunda istatistiksel olarak önemli düzeye erişmeyen artış oluşturmuştur.
16. SHR'lerde 5 haftalık detraining aortta egzersizle artmış olan HO-1 ekspresyonunun azalmasına, 10 haftalık detraining ise gastrocnemius kası direnç arterinde HO-2 ekspresyonunun artmasına sebep olmuştur. Her iki değişiklik de istatistiksel olarak önemli düzeydedir.
17. Sedanter SHR'lerin kan COHb konsantrasyonları HO-2 gen ekspresyonundaki azalmayla ilişkili olarak düşük bulunmuştur. Bu azalma ile eş zamanlı olarak serum NOx düzeyinde artış saptanmıştır. Bu bulgular CO'nun SHR'lerde NO için bir yedekleme molekülü olarak fonksiyon gördüğü görüşünü desteklemektedir.
18. Egzersiz kan COHb indeksinde artışa sebep olmuştur. SHR'lerdeki artış daha belirgin olup istatistiksel olarak önemli düzeydedir. Egzersiz eğitimiyle HT'if sıçanlarda artan CO'nun, K⁺ kanal aktivasyonu aracılıklı vazodilatasyonla ilişkili olduğu ileri sürülebilir.
19. Hem HO-1 ekspresyonu hem de kan COHb düzeyi detrainingin 5. haftasında azalmış, 10. haftasında yeniden artmıştır. Bu veriler kan COHb düzeyindeki değişikliklerin HO-1'e bağlı olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızın sonuçları uzun süreli yüzme egzersizinin kan basıncını azalttığını, HT'if sıçanlarda egzersizle elde edilen kan basıncı düşüşünün geri dönmesi için egzersiz süresine eşit bir detraining süreci geçmesi gerektiğini göstermektedir. Egzersizin bahsedilen olumlu etkilerinde NO ve CO'nun -kısmen de olsa- rolü olduğu görülmektedir. Verilerimiz HT'nin önlenmesinde egzersizi yaşam biçimi haline getirmenin önemini vurgulamaktadır.

7. KAYNAKLAR

Abraham NG. Molecular regulation--biological role of heme in hematopoiesis. **Blood Rev** 1991; 5: 19-28.

Abrahám S, Hermes E, Szabó A, Ferencz A, Jancsó Z, Duda E, Abrahám M, Lázár G, Lázár G Jr. Effects of Kupffer cell blockade on the hepatic expression of metallothionein and heme oxygenase genes in endotoxemic rats with obstructive jaundice. **Life Sci** 2012; 90(3-4): 140-146.

Agarwal D, Haque M, Sriramula S, Mariappan N, Pariaut R, Francis J. Role of proinflammatory cytokines and redox homeostasis in exercise-induced delayed progression of hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension** 2009; 54(6): 1393-400.

Aizawa T, Ishizaka N, Taguchi Ji, Nagai R, Mori I, Tang SS, Ingelfinger JR, Ohno M. Heme oxygenase-1 is upregulated in the kidney of angiotensin II-induced hypertensive rats: possible role in renoprotection. **Hypertension** 2000; 35(3): 800-806.

Aird WC. Endothelium as an organ system. **Crit Care Med** 2004; 32 (5): 271-279.

Akgün N. "Egzersiz ve solunum sistemi", Egzersiz Fizyolojisi, **Gökçe Ofset Matbaacılık**, Ankara, 1996, s.35-47.

Albrecht EW, Stegeman CA, Heeringa P, Henning RH, Van Goor H. Protective role of endothelial nitric oxide synthase. **J Pathol** 2003;199: 8-17.

Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. **Biochem J** 2001; 357: 593-615.

Amenta F, Di Tullio MA, Tomassoni D. Arterial hypertension and brain damage: evidence from animal models. **Clin Exper Hypertens** 2003; 25: 359-380.

Amenta F, Tayebati SK, Tomassoni D. Spontaneously hypertensive rat neuroanatomy: applications to pharmacological research. **Ital J Anat Embryol** 2010; 115(1-2): 13-17.

Androulakis ES, Tousoulis D, Papageorgiou N, Tsioufis C, Kallikazaros I, Stefanadis C. Essential hypertension: is there a role for inflammatory mechanisms? **Cardiol Rev** 2009; 17(5): 216-221.

Armstrong L, Balady GJ, Berry MJ, Davis SE, Davy BM, Davy KP, Franklin BA, Gordon NF. "Exercise prescription modifications for cardiac patients", ACSM's guidelines for exercise testing and prescription, Eds. Whaley MH, Brubaker PH, Otto RM. **Lippincott Williams & Wilkins**, USA, 2006; s. 205-215.

- Babalık E. Hipertansiyon Patofizyolojisi. **Klinik Gelişim** 2005;18: 25-32.
- Barbato JE, Tzeng E. Nitric oxide and arterial disease. **J Vasc Surg** 2004; 40: 187-193.
- Barbosa Neto O, Abate DT, Marocolo Júnior M, Mota GR, Orsatti FL, Rossi e Silva RC, Reis MA, da Silva VJ. Exercise training improves cardiovascular autonomic activity and attenuates renal damage in spontaneously hypertensive rats. **J Sports Sci Med** 2013; 12(1): 52-59.
- Bauer I, Pannen BH. Bench-to-bedside review: Carbon monoxide--from mitochondrial poisoning to therapeutic use. **Crit Care** 2009; 13 (4): 220.
- Bauersachs J, Bouloumie A, Mülsch A, Wiemer G, Fleming I. Vasodilator dysfunction in aged spontaneously hypertensive rats: changes in NO synthase III and soluble guanylyl expression and in superoxide anion production. **Cardiovasc Res** 1998; 37: 772-779.
- Bertagnolli M, Schenkel PC, Campos C, Mostarda CT, Casarini DE, Bello-Klein, A, Irigoyen MC, Rigatto K. Exercise training reduces sympathetic modulation on cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. **Am J Hypertension** 2008; 21: 1188-1193.
- Blair SN, Sallis RE, Hutber A, Archer E. Exercise therapy - the public health message. **Scand J Med Sci Sports** 2012; 22(4): e24-8.
- Blaise GA, Gauvin D, Gangal M, Authier S. Nitric oxide, cell signaling and cell death. **Toxicology** 2005; 208(2): 177-192.
- Blanco-Rivero J, Roque FR, Sastre E, Caracuel L, Couto GK, Avendaño MS, Paula SM, Rossoni LV, Salaices M, Balfagón G. Aerobic exercise training increases neuronal nitric oxide release and bioavailability and decreases noradrenaline release in mesenteric artery from spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens** 2013; 31(5): 916-926.
- Boa BC, Souza Md, Leite RD, da Silva SV, Barja-Fidalgo TC, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Chronic aerobic exercise associated to dietary modification improve endothelial function and eNOS expression in high fat fed hamsters. **PLoS One** 2014; 9 (7): e102554.
- Bocalini DS, Carvalho EV, de Sousa AF, Levy RF, Tucci PJ. Exercise training-induced enhancement in myocardial mechanics is lost after 2 weeks of detraining in rats. **Eur J Appl Physiol** 2010; 109(5): 909-914.
- Boissiere J, Lemaire MC, Antier D, Courteix D, Bonnet P. Exercise and vasorelaxing effects of CO-releasing molecules in hypertensive rats. **Med Sci Sports Exerc** 2006; 38 (4): 652-659.
- Bolívar JJ. Essential hypertension: an approach to its etiology and neurogenic pathophysiology. **Int J Hypertens** 2013; 2013: 547809.
- Bouloumie G, Fleming I, Busse R. Endothelial dysfunction coincides with an enhanced NO synthase expression and superoxide anion production. **Hypertension** 1997; 30: 934- 941.

Booth FW, Hargreaves M. Understanding multi-organ pathology from insufficient exercise. *J Appl Physiol* 2011; 111(4): 1199-1200.

Boger RH, Bode-Boger SM, Gerecke U, Gutzki FM, Tsikas D, Frolich JC. Urinary NO₃- excretion as an indicator of nitric oxide formation in vivo during oral administration of L-arginine or L-name in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996; 23(1): 11-15.

Brenner R, Perez GJ, Bonev AD, Eckman DM, Kosek JC, Wiler SW, Patterson AJ, Nelson MT, Aldrich RW. Vasoregulation by the β 1 subunit of the calcium-activated potassium channel. *Nature* 2000; 407: 870-876.

Brown MD. Exercise and coronary vascular remodelling in the healthy heart. *Exp Biol Med* 2003; 88: 645-658.

Campos JC, Gomes KM, Ferreira JC. Impact of exercise training on redox signaling in cardiovascular diseases. *Food Chem Toxicol* 2013; 62: 107-119.

Carneiro-Júnior MA, Pelúzio MC, Silva CH, Amorim PR, Silva KA, Souza MO, Castro CA, Roman-Campos D, Primola-Gomes TN, Natali AJ. Exercise training and detraining modify the morphological and mechanical properties of single cardiac myocytes obtained from spontaneously hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res* 2010; 43(11), 1042-1046.

Chen HI, Chiang IP. Chronic exercise decreases adrenergic agonist-induced vasoconstriction in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 1996; 271 (3 Pt 2): H977-983.

Chen HI, Hu CT. Endogenous nitric oxide on arterial hemodynamics: a comparison between normotensive and hypertensive rats. *Am J Physiol* 1997; 273(4 Pt 2): H1816-23.

Chen YH, Yet SF, Perrella MA. Role of heme oxygenase-1 in the regulation of blood pressure and cardiac function. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228(5): 447-53.

Cheng PY, Chen JJ, Yen MH. The expression of heme oxygenase-1 and inducible nitric oxide synthase in aorta during the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 2004; 17(12 Pt 1): 1127-1134.

Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ. National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289(19): 2560-2572.

Chou TC, Yen MH, Li CY, Ding YA. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension* 1998; 31(2): 643-648.

Conrad CH, Brooks WW, Hayes JA, Sen S, Robinson KG, Bing OH. Myocardial fibrosis and stiffness with hypertrophy and heart failure in the spontaneously hypertensive rat. *Circulation* 1995; 91(1): 161-170.

Cornelissen VA, Smart NA. Exercise training for blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *J Am Heart Assoc* 2013; 2(1): e004473.

Cui X, Chopp M, Zacharek A, Ning R, Ding X, Roberts C, Chen J. Endothelial nitric oxide synthase regulates white matter changes via the BDNF/TrkB pathway after stroke in mice. *PLoS One* 2013; 8(11): e80358.

Dasgupta K, Quinn RR, Zarnke KB, Rabi DM, Ravani P, Daskalopoulou SS, Rabkin SW, Trudeau L, Feldman RD, Cloutier L, Prebtani A, Herman RJ, Bacon SL, Gilbert RE, Ruzicka M, McKay DW, Campbell TS, Grover S, Honos G, Schiffrin EL, Bolli P, Wilson TW, Lindsay P, Hill MD, Coutts SB, Gubitza G, Gelfer M, Vallée M, Prasad GV, Lebel M, McLean D, Arnold JM, Moe GW, Howlett JG, Boulanger JM, Laroche P, Leiter LA, Jones C, Ogilvie RI, Woo V, Kaczorowski J, Burns KD, Petrella RJ, Hiremath S, Milot A, Stone JA, Drouin D, Lavoie KL, Lamarre-Cliche M, Tremblay G, Hamet P, Fodor G, Carruthers SG, Pylypchuk GB, Burgess E, Lewanczuk R, Dresser GK, Penner SB, Hegele RA, McFarlane PA, Khara M, Pipe A, Oh P, Selby P, Sharma M, Reid DJ, Tobe SW, Padwal RS, Poirier L; Canadian Hypertension Education Program. The 2014 Canadian Hypertension Education Program recommendations for blood pressure measurement, diagnosis, assessment of risk, prevention, and treatment of hypertension. *Can J Cardiol* 2014; 30(5): 485-501.

Delp MD, Laughlin MH. Time course of enhanced endothelium-mediated dilation in aorta of trained rats. *Med Sci Sports Exerc* 1997; 29:1454-1461.

DeSouza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, Dinunno FA, Monahan KD, Tanaka H, Seals DR. Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthymen. *Circulation* 2000; 102: 1351-1357.

Ding Y, McCoubrey WK, Maines MD. Interaction Of Heme Oxygenase-2 With Nitric Oxide Donors. Is The Oxygenase An Intracellular "Sink" For No? *Eur J Biochem* 1999; 264: 854-861.

Dunbar CC. The antihypertensive effects of exercise training. *NY State J Med* 1992; 6: 250-255.

Duncker DJ, Bache RJ. Regulation of coronary blood flow during exercise. *Physiological Reviews* 2008; 88: 1009-1086.

Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Role of carbon monoxide in cardiovascular function. *J Cell Mol Med* 2006; 10(3): 672-686.

Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004;15: 1983-1992.

Essig DA, Borger DR, Jackson DA. Induction of heme oxygenase-1 (HSP32) mRNA in skeletal muscle following contractions. *Am J Physiol* 1997; 272: 59-67.

Fabri T, Machado KB, Rezende RS, Mercedes L, Vieira MAR, Campagnole-Santos, MJ, Rocha-Vieira E, Becker LK. Aquatic And Land Exercise Training Affects Renal Function In Rats Under Isosmotic Volume Expansion. *JEPonline* 2010; 13(2): 42-51.

Fagard RH. Blood pressure lowering therapy in older and younger hypertensive patients. *J Hypertens* 2011; 29(3): 440-442.

Faria Tde O, Targueta GP, Angeli JK, Almeida EA, Stefanon I, Vassallo DV, Lizardo JH. Acute resistance exercise reduces blood pressure and vascular reactivity, and increases endothelium-dependent relaxation in spontaneously hypertensive rats. **Eur J Appl Physiol** 2010; 110: 359-366.

Fernandes T, Nakamuta JS, Magalhães FC, Roque FR, Lavini-Ramos C, Schettert IT, Coelho V, Krieger JE, Oliveira EM. Exercise training restores the endothelial progenitor cells number and function in hypertension: implications for angiogenesis. **J Hypertens** 2012; 30(11): 2133-2143.

Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. **Eur Heart J** 2012; 33(7): 829-837.

Garcia-Pinto AB, de Matos VS, Rocha V, Moraes-Teixeira J, Carvalho JJ. Low-Intensity physical activity beneficially alters the ultrastructural renal morphology of spontaneously hypertensive rats. **Clinics (Sao Paulo)** 2011; 66(5):855-863.

Gerová M. Nitric oxide-compromised hypertension: facts and enigmas. **Physiol Res** 2000;49(1):27-35.

Ghosh S, Golbidi S, Werner I, Verchere BC, Laher I. Selecting exercise regimens and strains to modify obesity and diabetes in rodents: an overview. **Clin Sci (Lond)**. 2010; 119(2): 57-74.

Golbidi S, Laher I. Exercise and the aging endothelium. **J Diabetes Res** 2013; 2013: 789607.

Gorman D, Drewry A, Huang YL, Sames C. The Clinical Toxicology of Carbon Monoxide. **Toxicology** 2003; 187: 25-38.

Graham DA, Rush JW. Exercise training improves aortic endothelium-dependent vasorelaxation and determinants of nitric oxide bioavailability in spontaneously hypertensive rats. **J Appl Physiol** 2004; 96(6): 2088-2096.

Grasii G, Seravalle G, Calhoun D, Bolla GB, Mancia G. Physical exercise in essential hypertension. **Chest** 1992; 101(5): 312-314.

Gu Q, Wang B, Zhang XF, Ma YP, Liu JD, Wang XZ. Contribution of hydrogen sulfide and nitric oxide to exercise-induced attenuation of aortic remodeling and improvement of endothelial function in spontaneously hypertensive rats. **Mol Cell Biochem** 2013; 375(1-2): 199-206.

Gunduz F, Kocer G, Ulker S, Meiselman HJ, Baskurt OK, Senturk UK. Exercise Training Enhances Flow-Mediated Dilatation in Spontaneously Hypertensive Rats. **Physiol Res** 2011; 60: 589-597.

Guyton AC, Hall JE. "Dolaşım Sistemi; Basınç, Akım ve Direncin Tıbbi Fizik Prensipleri" "Alyuvarlar, Anemi ve Polisitemi", Tıbbi Fizyoloji, Eds. Çavuşoğlu H, Çağlayan Yeğen B, Aydın Z, Alican G, **Nobel Tıp Kitabevleri**, İstanbul, 1996, s.160-170, s.425-433.

Hartsfield CL. Cross talk between carbon monoxide and nitric oxide. **Antioxid Redox Signal** 2002; 4(2): 301-307.

Hildebrandt AL, Pilegaard H, Neufer PD. Differential transcriptional activation of select metabolic genes in response to variations in exercise intensity and duration. ***Am J Physiol Endocrinol Metab*** 2003; 285(5): 1021-1027.

Hord NG, Tang Y, Bryan NS. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. ***Am J Clin Nutr*** 2009; 90(1): 1-10.

Hosick PA, Stec DE. Heme oxygenase, a novel target for the treatment of hypertension and obesity? ***Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*** 2012; 302(2): 207-214.

Huang A, Sun D, Kaley G, Koller A. Superoxide released to high intra-arteriolar pressure reduces nitric oxide-mediated shear stress- and agonist-induced dilations. ***Circ Res*** 1998; 83(9): 960-965.

Ishikawa-Takata K, Ohta T, Tanaka H. How much exercise is required to reduce blood pressure in essential hypertensives: a dose-response study. ***Am J Hypertens*** 2003; 16(8): 629-633.

Jaggari JH, Li A, Parfenova H, Liu J, Umstot ES, Dopico AM, Leffler CW. Heme is a carbon monoxide receptor for large-conductance Ca^{2+} activated K^+ channels. ***Circ Res*** 2005; 97: 805-812.

James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, Lackland DT, LeFevre ML, MacKenzie TD, Ogedegbe O, Smith SC Jr, Svetkey LP, Taler SJ, Townsend RR, Wright JT Jr, Narva AS, Ortiz E. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). ***JAMA*** 2014; 311(5): 507-520.

Jennings GL. Exercise and blood pressure: walk, run or swim? ***J Hypertens*** 1997; 15(6): 567-569.

Johnson LR, Laughlin MH. Chronic exercise training does not alter pulmonary vasorelaxation in normal pigs. ***J Appl Physiol*** 2000; 88(6): 2008-2014.

Johnson FK, Durante W, Peyton KJ, Johnson RA. Heme oxygenase-mediated endothelial dysfunction in DOCA-salt, but not in spontaneously hypertensive, rat arterioles. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 2004; 286(5): H1681-1687.

Juhasz B, Varga B, Czompa A, Bak I, Lekli I, Gesztelyi R, Zsuga J, Kemeny-Beke A, Antal M, Szendrei L, Tosaki A. Postischemic cardiac recovery in heme oxygenase-1 transgenic ischemic/reperfused mouse myocardium. ***J Cell Mol Med*** 2011;15(9): 1973-1982.

Kajimura M, Shimoyama M, Tsuyama S, Suzuki T, Kozaki S, Takenaka S, Tsubota K, Oguchi Y, Suematsu M. Visualization of gaseous monoxide reception by soluble guanylate cyclase in the rat retina. ***FASEB J*** 2003;17: 506-508.

Kalyon TA. Spor Hekimliği, ***Gata Basımevi***, Ankara, 2000; s.4-75.

Karuzina II, Zgoda VG, Kuznetsova GP, Samenkova NF, Archakov AI. Heme and apoprotein modification of cytochrome P450 2B4 during its oxidative inactivation in monooxygenase reconstituted system. ***Free Radic Biol Med*** 1999; 26(5-6): 620-632.

Kelley GA, Kelley KS. Progressive resistance exercise and resting blood pressure: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Hypertension** 2000; 35(3): 838-843.

Kertész A, Bombicz M, Priksz D, Balla J, Balla G, Gesztelyi R, Varga B, Haines DD, Tosaki A, Juhasz B. Adverse impact of diet-induced hypercholesterolemia on cardiovascular tissue homeostasis in a rabbit model: time-dependent changes in cardiac parameters. **Int J Mol Sci** 2013; 14(9): 19086-19108.

Kılınç K, Kılınç A. "Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri", Nitrik oksit sentaz enzimleri ve nitrik oksitin sentezi, **Palme Yayıncılık**, Ankara, 2003, s123-135.

Kim YM, Pae HO, Park JE, Lee YC, Woo JM, Kim NH, Choi YK, Lee BS, Kim SR, Chung HT. Heme oxygenase in the regulation of vascular biology: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. **Antioxid Redox Signal** 2011; 14(1): 137-167.

Kingwell BA, Arnold PJ, Jennings GL, Dart AM. Spontaneous running increases aortic compliance in Wistar-Kyoto rats. **Cardiovasc Res** 1997; 35(1): 132-137.

Kingwell BA. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise effects of training in health and cardiovascular disease. **FASEB J** 2000; 14: 1685-1696.

Kingwell BA, Tran B, Cameron JD, Jennings GL, Dart AM. Enhanced vasodilation to acetylcholine in athletes is associated with lower plasma cholesterol. **Am J Physiol** 1996; 270(6 Pt 2): H2008-13.

Kuru O, Sentürk UK, Koçer G, Ozdem S, Başkurt OK, Cetin A, Yeşilkaya A, Gündüz F. Effect of exercise training on resistance arteries in rats with chronic NOS inhibition. **J Appl Physiol** 2009; 107(3): 896-902.

Kuyumcu A, Duzgun AP, Ozmen MM, Besler HT. The role of nitric oxide in trauma and infection. **Ulus Travma Acil Cerrahi Derg** 2004; 10(3): 149-159.

Lazar JM, Khanna N, Chesler R, Saliccioli L. Swimming and the heart. **Int J Cardiol** 2013; 168(1): 19-26.

Lee CY, Yen MH. Nitric oxide and carbon monoxide, collaborative and competitive regulators of hypertension. **Chang Gung Med J** 2009; 32(1): 12-21.

Leffler CW, Parfenova H, Jaggar JH. Carbon monoxide as an endogenous vascular modulator. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 2011; 301(1): 1-11.

Lehnen AM, Leguisamo NM, Pinto GH, Markoski MM, De Angelis K, Machado UF, Schaan B. The beneficial effects of exercise in rodents are preserved after detraining: a phenomenon unrelated to GLUT4 expression. **Cardiovasc Diabetol** 2010; 28: 9-67.

Lerman LO, Chade AR, Sica V, Napoli C: Animal models of hypertension: an overview. **J Lab Clin Med** 2005; 146(3): 160-173.

Leung FP, Yung LM, Laher I, Yao X, Chen ZY, Huang Y. Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: an update (Part 1). **Sports Med** 2008; 38(12): 1009-1024.

Levine GN, Balady GJ. The benefits and risks of exercise training: the exercise prescription. **Adv Intern Med** 1993; 38: 57-79.

Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. **Lancet** 2002; 360: 1903-1913.

Li H, Förstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. **J Pathol** 2000; 190(3): 244-254.

Li JM, Shah AM. Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 2004; 287(5): R1014-30.

Llorens S, Fernández AP, Nava E. Cardiovascular and renal alterations on the nitric oxide pathway in spontaneous hypertension and ageing. **Clin Hemorheol Microcirc** 2007; 37(1-2): 149-156.

Lotshaw AM, Thompson M, Sadowsky S, Hart MK, Millard MW. Quality of life and physical performance in land- and water-based pulmonary rehabilitation. **J Cardiopulm Rehabil Prev** 2007; 27: 247-251.

Lüscher TF, Vanhoutte PM. The Endothelium: Modulator of Cardiovascular Functions, **CRC Press**, Boca Raton, 1991, s. 1-228.

MacDonnell SM, Kubo H, Crabbe DL, Renna BF, Reger PO, Mohara J, Smithwick LA, Koch WJ, Houser SR, Libonati JR. Improved myocardial beta-adrenergic responsiveness and signaling with exercise training in hypertension. **Circulation** 2005; 111(25): 3420-3428.

Maeda S, Miyauchi T, Kakiyama T, Sugawara J, Iemitsu M, Irukayama-Tomobe Y, Murakami H, Kumagai Y, Kuno S, Matsuda M. Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. **Life Sci** 2001; 69(9): 1005-1016.

Maines MD, Panahian N. The heme oxygenase system and cellular defense mechanisms. Do HO-1 and HO-2 have different functions? **Adv Exp Med Biol** 2001; 502: 249-272.

Maines MD. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. **Annu Rev Pharmacol Toxicol** 1997; 37: 517-554.

Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). **J Hypertens** 2013; 31: 1281-1357.

Marin J, Rodríguez-Martínez MA. Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. **Pharmacol Ther** 1997; 75(2): 111-134.

Marini M, Lapalombella R, Margonato V, Ronchi R, Samaja M, Scapin C, Gorza L, Maraldi T, Carinci P, Ventura C, Veicsteinas A. Mild exercise training, cardioprotection and stress genes profile. **Eur J Appl Physiol** 2007; 99(5): 503-510.

Mateo AO, de Artinano AA. Nitric oxide reactivity and mechanisms involved in its biological effects. **Pharmacol Res** 2000; 42: 421-427.

Maulik N, Engelman DT, Watanabe M, Engelman RM, Das DK. Nitric oxide-a retrograde messenger for carbon monoxide signaling in ischemic heart. **Mol Cell Biochem** 1996; 157: 75-86.

McCoubrey WK, Huang TJ, Maines MD. Isolation and characterization of a cDNA from the rat brain that encodes hemoprotein heme oxygenase-3. **Eur J Biochem** 1997; 247: 725-732.

Melo R, Martinho E, Michelini L. Training-Induced, Pressure-Lowering Effect in SHR Wide Effects on Circulatory Profile of Exercised and Nonexercised Muscles, **Hypertension** 2003; 42(2): 851-857.

Meredith IT, Friberg P, Jennings GL, Dewar EM, Fazio VA, Lambert GW, Esler MD. Exercise training lowers resting renal but not cardiac sympathetic activity in humans. **Hypertension** 1991; 18(5): 575-582.

Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol Rev** 1991; 43(2): 109-142.

Moraes-Teixeira Jde A, Félix A, Fernandes-Santos C, Moura AS, Mandarim-de-Lacerda CA, de Carvalho JJ. Exercise training enhances elastin, fibrillin and nitric oxide in the aorta wall of spontaneously hypertensive rats. **Exp Mol Pathol** 2010; 89(3): 351-357.

Morse D, Choi AM. Heme oxygenase-1: from bench to bedside. **Am J Respir Crit Care Med** 2005; 172(6): 660-670.

Mujika L, Padilla S. Detraining, loss of training-induced physiological and performance adaptations. Part I: short term insufficient training stimulus. **Sports Med** 2000; 30: 79-87.

Nathan CF, Hibbs JB Jr. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. **Curr Opin Immunol** 1991; 3(1): 65-70.

Nakazono K, Watanabe N, Matsuno K, Sasaki J, Sato T, Inoue M. Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? **Proc Natl Acad Sci U S A** 1991; 88(22): 10045-10048.

Ndisang JF, Zhao W, Wang R. Selective regulation of blood pressure by heme oxygenase-1 in hypertension. **Hypertension** 2002; 40(3): 315-321.

Ndisang JF, Tabien HEN, Wang R. Carbon monoxide and hypertension. **J Hypertens** 2004; 22: 1057-1074.

Ohta Y, Tsuchihashi T, Kiyohara K. Relationship between blood pressure control status and lifestyle in hypertensive outpatients. **Intern Med** 2011; 50(19): 2107-2112.

Okamoto K, Akoi K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn Circ J** 1963; 27: 282-293.

Olson SY, Garban HJ. Regulation of apoptosis-related genes by nitric oxide in cancer. **Nitric Oxide** 2008; 19: 170-176.

Omaye ST. Metabolic modulation of carbon monoxide toxicity. **Toxicology** 2002; 180: 139-150.

- Pae HO, Son Y, Kim NH, Jeong HJ, Chang KC, Chung HT. Role of heme oxygenase in preserving vascular bioactive NO. *Nitric Oxide* 2010; 23(4): 251-257.
- Panda K, Rosenfeld RJ, Ghosh S, Meade AL, Getzoff ED, Stuehr DJ. Distinct dimer interaction and regulation in nitric-oxide synthase types I, II, and III. *J Biol Chem* 2002; 277: 31020-31030.
- Pavlik G. Effects of physical training and detraining on resting cardiovascular parameters in albino rats. *Acta Physiol Hung* 1985; 66(1): 27-37.
- Peake J, Suzuki K. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exerc Immunol Rev* 2004; 10: 129-141.
- Pescatello LS, Franklin BA, Fagard R, Farquhar WB, Kelley GA, Ray CA, American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension, *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36: 533-553.
- Pfeilschifter J. Signalling pathways of nitric oxide. *Kidney Blood Press Res* 2000; 23(3-5): 159-161.
- Piantadosi CA. Carbon monoxide poisoning. *Undersea Hyperb Med* 2004; 31 (1): 167-177.
- Pimstone NR, Tenhunen R, Seitz PT, Marver HS, Schmid R. The enzymatic degradation of hemoglobin to bile pigments by macrophages. *J Exp Med* 1971; 133: 1264-1281.
- Púzserová A, Kopincová J, Slezák P, Bališ P, Bernátová I. Endothelial dysfunction in femoral artery of the hypertensive rats is nitric oxide independent. *Physiol Res* 2013; 62(6): 615-629.
- Radomsky MV, Moncada S. Regulation of vascular homeostasis by nitric oxide. *Thromb Haemost* 1993; 70: 36-41.
- Roque FR, Briones AM, García-Redondo AB, Galán M, Martínez-Revelles S, Avendaño MS, Cachafeiro V, Fernandes T, Vassallo DV, Oliveira EM, Salaiques M. Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. *Br J Pharmacol* 2013; 168(3): 686-703.
- Rupp JC. "Exercise Physiology", In: ACSM health fitness certification review Eds. Roitman JL, Bibi KW, Thompson WR, *Lippincot Williams & Wilkins Press*, Philadelphia, 2001, s.127-165.
- Ryter SW, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from metabolism to molecular therapy. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2009; 41(3): 251-260.
- Ryter SW, Morse D, Choi AM. Carbon monoxide: to boldly go where NO has gone before. *Sci STKE* 2004; 2004(230): RE6.
- Ryter SW, Otterbein LE. Carbon monoxide in biology and medicine. *Bioessays* 2004; 26(3): 270-280.

Ryter SW, Alam J, Choi AMK. Hemeoxygenase -1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev* 2006; 86: 583-650.

Sabaawy HE, Zhang F, Nguyen X, ElHosseiny A, Nasjletti A, Schwartzman M, Dennery P, Kappas A, Abraham NG. Human heme oxygenase-1 gene transfer lowers blood pressure and promotes growth in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2001; 38(2): 210-215.

Sasaki Y, Noguchi T, Yamamoto E, Giddings JC, Ikeda K, Yamori Y, Yamamoto J. Effects of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on cerebral thrombosis and blood pressure in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002; 29(11): 963-967.

Schulman IH, Zhou MS, Raji L. Interaction between nitric oxide and angiotensin II in the endothelium: role in atherosclerosis and hypertension. *J Hypertens Suppl* 2006; 24(1): 45-50.

Sessa WC. Regulation of endothelial derived nitric oxide in health and disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100(l): 15-18.

Sherman DL. Exercise and endothelial function. *Coron Artery Dis* 2000; 11: 117-122.

Shibahara S, Muller RM, Taguchi H. Transcriptional control of rat heme oxygenase by heat shock. *J Biol Chem* 1987; 262(27): 12889-12892.

Shimokawa H, Yasutake H, Fujii K, Owada MK, Nakaike R, Fukumoto Y, Takayanagi T, Nagao T, Egashira K, Fujishima M, Takeshita A. The importance of the hyperpolarizing mechanism increases as the vessel size decreases in endothelium-dependent relaxations in rat mesenteric circulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 28(5): 703-711.

Shinde UA, Mehta AA, Goyal RK. Nitric oxide: a molecule of the millennium. *Indian J Exp Biol* 2000; 38(3): 201-210.

Silva DM, Gomes-Filho A, Olivon VC, Santos TM, Becker LK, Santos RA, Lemos VS. Swimming training improves the vasodilator effect of angiotensin-(1-7) in the aorta of spontaneously hypertensive rat. *J Appl Physiol* 2011; 111(5): 1272-1277.

Siow RCM, Sato H, Mann GE. Heme oxygenase - carbon monoxide signalling pathway in atherosclerosis: Anti-atherogenic action of bilirubin and carbon monoxide. *Cardiovasc Res* 1999; 41: 385-394.

Stec DE, Drummond HA, Vera T. Role of carbon monoxide in blood pressure regulation. *Hypertension* 2008; 51: 597-604.

Sternbach GL, Varon J, Bernard C. On the origin of carbon monoxide poisoning. *Resuscita* 2003; 58: 127-130.

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

Sun MW, Zhong MF, Gu J, Qian FL, Gu JZ, Chen H. Effects of different levels of exercise volume on endothelium-dependent vasodilation: roles of nitric oxide synthase and heme oxygenase. **Hypertens Res** 2008; 31(4): 805-816.

Sun ZJ, Zhang ZE. Historic perspectives and recent advances in major animal models of hypertension. **Acta Pharmacol Sin** 2005; 26(3): 295-301.

Sun M, Shen W, Zhong M, Wu P, Chen H, Lu A. Nandrolone attenuates aortic adaptation to exercise in rats. **Cardiovasc Res** 2013; 97(4): 686-695.

Szalai Z, Szász A, Nagy I, Puskás LG, Kupai K, Király A, Berkó AM, Pósa A, Strifler G, Baráth Z, Nagy LI, Szabó R, Pávó I, Murlasits Z, Gyöngyösi M, Varga C. Anti-inflammatory effect of recreational exercise in TNBS-induced colitis in rats: role of NOS/HO/MPO system. **Oxid Med Cell Longev** 2014; 2014: 925981.

Taddei S, Galetta F, Viridis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Franzoni F, Giusti C, Salvetti A. Physical activity prevents age-related impairment in nitric oxide availability in elderly athletes. **Circulation** 2000; 101(25): 2896-2901.

Takahashi H, Yoshika M, Komiyama Y, Nishimura M. The central mechanism underlying hypertension: a review of the roles of sodium ions, epithelial sodium channels, the renin-angiotensin-aldosterone system, oxidative stress and endogenous digitalis in the brain. **Hypertens Res** 2011; 34(11): 1147-1160.

Tanaka H. Swimming exercise: impact of aquatic exercise on cardiovascular health. **Sports Med** 2009; 39(5): 377-387.

Temiz A, Baskurt OK, Pekcetin C, Kandemir F, Gure A. Leukocyte activation, oxidant stress and red blood cell properties after acute, exhausting exercise in rats. **Clin Hemorheol Microcirc** 2000; 22(4): 253-259.

Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. **Proc Natl Acad Sci USA** 1968; 61: 748-755.

Thompson D, Basu-Modak S, Gordon MJ, Poore S, Markovitch D, Tyrrell R. Exercise-induced expression of heme oxygenase-1 in human lymphocytes. **Free Radic Res** 2005; 39: 63-69.

Török J. Participation of nitric oxide in different models of experimental hypertension. **Physiol Res** 2008; 57(6): 813-825.

Török J, Kristek F. Functional and morphological pattern of vascular responses in two models of experimental hypertension. **Exp Clin Cardiol** 2001; 6(3): 142-148.

Ulker S, McMaster D, McKeown PP, Bayraktutan U. Impaired activities of antioxidant enzymes elicit endothelial dysfunction in spontaneous hypertensive rats despite enhanced vascular nitric oxide generation. **Cardiovasc Res** 2003; 59(2): 488-500.

Ushiyama M, Morita T, Katayama S. Carbon monoxide regulates blood pressure cooperatively with nitric oxide in hypertensive rats. **Heart Vessels** 2002; 16(5): 189-195.

Ülker S. Nitrik oksit sentaz inhibisyonuna bağlı hipertansiyon modelinde egzersizin direnç damarlarında karbon monoksit yolağına etkisi. Yüksek lisans Tezi, **Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Antalya, 2011, s. 74.

- 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** 1999; 99(22): 2951-2957.
- Versari D, Daghini E, Viridis A, Ghiadoni L, Taddei S. Endothelium-dependent contractions and endothelial dysfunction in human hypertension. **Br J Pharmacol** 2009; 157(4): 527-536.
- Villeneuve PJ, Morrison HI, Craig CL, Schaubel DE. Physical activity, physical fitness, and risk of dying. **Epidemiology** 1998; 9: 626-631.
- Wang LM, Tian XF, Song QY, Gao ZM, Luo FW, Yang CM. Expression and role of inducible nitric oxide synthase in ischemia-reperfusion liver in rats. **Hepatobiliary Pancreat Dis Int** 2003; 2(2): 252-258.
- Wannamethee SG, Shaper AG. Physical activity in the prevention of cardiovascular disease: an epidemiological perspective. **Sports Med** 2001; 31(2): 101-114.
- Weber MA, Schiffrin EL, White WB, Mann S, Lindholm LH, Kenerson JG, Flack JM, Carter BL, Materson BJ, Ram CV, Cohen DL, Cadet JC, Jean-Charles RR, Taler S, Kountz D, Townsend RR, Chalmers J, Ramirez AJ, Bakris GL, Wang J, Schutte AE, Bisognano JD, Touyz RM, Sica D, Harrap SB. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. **J Clin Hypertens (Greenwich)** 2014; 16(1): 14-26.
- Weller R. Nitric Oxide A. Newly Discovered Chemical Transmitter in Human Skin. **Br J Dermatol** 1997; 137: 665-672.
- Whelton SP, Chin A, Xin X, He J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. **Ann Intern Med** 2002; 136(7): 493-503.
- Wilmore JH, Costill DL. Physiology of Sports and Exercise, **Champaign**, New York, 1999, s.490–507.
- Yachie A, Niida Y, Wada T, Igarashi N, Kaneda H, Toma T, Ohta K, Kasahara Y, Koizumi S. Oxidative stress causes enhanced endothelial cell injury in human heme oxygenase-1 deficiency. **J Clin Invest** 1999; 103: 129-135.
- Yang L, Jia Z, Yang L, Zhu M, Zhang J, Liu J, Wu P, Tian W, Li J, Qi Z, Tang X. Exercise protects against chronic β -adrenergic remodeling of the heart by activation of endothelial nitric oxide synthase. **PLoS One** 2014; 9(5): e96892.
- Yang AL, Lo CW, Lee JT, Su CT. Enhancement of vasorelaxation in hypertension following high-intensity exercise. **Chin J Physiol** 2011; 54(2): 87-95.
- Ye Z, Guo Q, Xia P, Wang N, Wang E, Yuan Y. Sevoflurane postconditioning involves an up-regulation of HIF-1 α and HO-1 expression via PI3K/Akt pathway in a rat model of focal cerebral ischemia. **Brain Res** 2012; 1463: 63-74.

Yi L, Morgan JT, Ragsdale SW. Identification of a thiol/disulfide redox switch in the human BK channel that controls its affinity for heme and CO. *J Biol Chem* 2010; 285: 20117-20127.

Zamo FS, Barauna VG, Chiavegatto S, Irigoyen MC, Oliveira EM. The renin-angiotensin system is modulated by swimming training depending on the age of spontaneously hypertensive rats. *Life Sci* 2011; 89(3-4): 93-99.

8.ÖZGEÇMİŞ

02.12.1982 tarihinde Karaman'da dünyaya gelen Emine KILIÇ TOPRAK ilköğrenimini Gazi Mustafa Kemal İlkokulu'nda, orta öğrenimini Kız Orta Okulu'nda, lise öğrenimini ise Muhittin Güzelkılınç Süper Lisesi'nde tamamlamıştır. 2004 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu'nu bitirmiştir. 2004 yılının Eylül ayında Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu'nda yüksekisans eğitime ve Aralık ayında da araştırma görevlisi olarak çalışmaya başlamıştır. 2007 yılı Mayıs ayında mezun olduktan sonra Pamukkale Üniversitesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı'na uzman fizyoterapist olarak atanmıştır. Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksekisans eğitime 2008 yılı Eylül ayında başlayıp, 2010 yılı Temmuz ayında tamamlamış ve 2010 yılı Eylül döneminde aynı Anabilim Dalı'nda doktora eğitime başlamıştır. Evli ve 1 erkek çocuk annesi olan Emine KILIÇ TOPRAK, 2009 yılı Eylül ayından beri Pamukkale Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'nda öğretim görevlisi olarak çalışmaktadır.