



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



**İRİSİNİN İLETİM TİPİ ARTERLERDEKİ FONKSİYONEL
ETKİLERİ VE OLASI ETKİ MEKANİZMALARININ İZOLE
ORGAN BANYOSU MODELİNDE ARAŞTIRILMASI**

SADETTİN DEMİREL

ORCID ID: 0000-0002-3629-5344

(DOKTORA TEZİ)

BURSA-2021





T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



**İRİSİNİN İLETİM TİPİ ARTERLERDEKİ FONKSİYONEL ETKİLERİ
VE OLASI ETKİ MEKANİZMALARININ İZOLE ORGAN BANYOSU
MODELİNDE ARAŞTIRILMASI**

Sadettin DEMİREL

ORCID ID: 0000-0002-3629-5344

(DOKTORA TEZİ)

**DANIŞMAN:
Prof. Dr. Fadıl ÖZYENER**

219S306-TÜBİTAK

BURSA-2021

**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum “İrisinin İletim Tipi Arterlerdeki Fonksiyonel Etkileri ve Olası Etki Mekanizmalarının İzole Organ Banyosu Modelinde Araştırılması” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Sadettin DEMİREL
04.01.2021

İÇİNDEKİLER

İç Kapak	
ETİK BEYAN.....	II
KABUL ONAY.....	III
TEZ KONTROL VE BEYAN FORMU.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
TÜRKÇE ÖZET.....	VII
İNGİLİZCE ÖZET.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. İrisin.....	4
2.1.1. Tarihçesi ve İsimlendirilmesi.....	4
2.1.2. Biyokimyasal Yapısı.....	4
2.1.3. Sentezi ve Salımı.....	6
2.1.4. Dokulardaki Lokalizasyonu.....	8
2.1.5. Reseptörü.....	9
2.1.6. Etki Mekanizması.....	10
2.2. İrisin ve Egzersiz İlişkisi.....	11
2.3. Arterlerin Morfolojik Yapısı ve Fonksiyonu.....	12
2.3.1. Arter Duvarının Hücresel Yapısı.....	12
2.3.2. Vasküler Düz Kas Yapısı ve Vasküler Düz Kas Hücreleri.....	13
2.3.3. Vasküler Düz Kasta Kasılma Mekanizmaları.....	15
2.3.3.1. Düz Kasta Ca ⁺² Bağımlı Kasılma.....	16
2.3.3.2. Ca ⁺² Duyarlılaştırıcı Mekanizma ve Düz Kas Kasılması.....	17
2.3.4. Vasküler Düz Kasta Gevşeme Mekanizmaları.....	18
2.4. Arteriyel Tonus Regülasyonu.....	20
2.5. İrisinin Vasküler Düz Kas Gevşetici Etkisinde Rol Oynayan Olası Mekanizmalar.....	21
2.5.1. Protein Kinaz C.....	21
2.5.2. Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinazlar.....	22
2.5.3. Potasyum Kanalları.....	25
2.5.3.1. Kalsiyumla Aktive Edilen Potasyum Kanalları.....	27
2.5.3.2. Voltaja Duyarlı Potasyum Kanalları.....	29
2.6. <i>In-vitro</i> Kasıcı Ajan Olarak Fenilefrin.....	31
2.7. <i>In-vitro</i> Çözücü Ajan Olarak Dimetil Sülfoksit.....	32
2.8. Klasik İzole Organ Banyosu Modeli.....	34
2.8.1. İzole Damar Halkaları.....	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Deney Hayvanları.....	38
3.2. İzole Organ Banyosu Deneyleri.....	38
3.2.1. Aort Halkalarının Hazırlanması ve Organ Banyosuna Asılması.....	38
3.2.2. Deney Grupları.....	41
3.3. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar.....	46
3.4. İstatistiksel Analiz.....	46
3.5. Etik.....	46
4. BULGULAR.....	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	56
6. KAYNAKLAR.....	62
7. SİMGELER VE KISALTMALAR.....	78
8. EKLER.....	81

9. TEŞEKKÜR.....	82
10. ÖZGEÇMİŞ.....	83

TÜRKÇE ÖZET

Bu çalışmada, irisin konsantrasyonlarının iletim tipi bir arter olan sıçan torasik aortu halkalarında vasküler düz kas kontraktilesine etkileri ve bu etkilerde PKC, MEK1/2, K_v, SK_{Ca} ve BK_{Ca}'nın rollerinin olabileceği hipotezinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada, 10-12 haftalık 84 adet erkek Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Deney hayvanlarından izole edilen torasik aort halkalarına ait izometrik kasılma yanıtları izole organ banyosu modeli ile ölçülmüştür. Araştırmada kullanılan etken ve bloker/inhibitör maddelere göre 7 deney grubu oluşturulmuştur. Tüm deney gruplarında 10⁻⁵ M PHE ile ön kasılma oluşturulmuş ve irisinin 10⁻⁹-10⁻⁶ M aralığındaki konsantrasyonları kullanılmıştır. Gruplara ait veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve anlamlılık düzeyi p<0,05 olarak kabul edilmiştir.

İrisin 10⁻⁸, 10⁻⁷ ve 10⁻⁶ M'lık konsantrasyonlarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde gevşetici etki göstermiştir (p<0,001). PKC inhibitörü BIM I (10⁻⁷ M için p<0,001), MEK1/2 inhibitörü U0126 (10⁻⁷ M için p<0,05), K_v blokeri XE-991 (10⁻⁷ M için p<0,001), SK_{Ca} blokeri apamin (10⁻⁷ M için p<0,05) ve BK_{Ca} blokeri TEA (10⁻⁷ M için p<0,001) inkübasyonları değişik konsantrasyonlarda irisle indüklenen gevşeme yanıtlarını inhibe etmiştir. Bununla birlikte, BIM I, U0126 ve XE-991 çözücüsü DMSO irisine gevşeme yanıtlarını etkilememiştir (p>0,05).

Sonuç olarak, irisinin sıçan torasik aortu üzerindeki fonksiyonel gevşetici etkisine yönelik ilk fizyolojik bulgulara ulaşılmıştır. Ayrıca, bu çalışma irisle indüklenen gevşeme yanıtlarının PKC, MEK1/2, voltaja duyarlı ve kalsiyumla aktive edilen K⁺ kanalları etkinliğiyle ilişkili olabileceğini bildiren ilk çalışmadır. Deneysel bulgularımız, irisinin hipertansiyon ve ateroskleroz gibi anormal vazokonstriksiyonla ilişkili kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde yararlı bir ajan olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: İrisin, vazodilatasyon, mitojenle aktive edilen protein kinazlar, potasyum kanalları, organ banyosu

İNGİLİZCE ÖZET

INVESTIGATION OF FUNCTIONAL EFFECTS AND POTENTIAL EFFECT MECHANISMS OF IRISIN IN CONDUCTING ARTERIES WITH ISOLATED ORGAN BATH MODEL

In this study, it was aimed to investigate the effects of irisin concentrations on vascular smooth muscle contractility in rat thoracic aortic rings, which is a conduction type artery, and the hypothesis that PKC, MEK1/2, K_v, SK_{Ca} and BK_{Ca} may have roles in these effects.

84 male Wistar Albino rats of 10-12 weeks of age were used in the study. Isometric contraction responses of thoracic aortic rings isolated from experimental animals were measured with an isolated organ bath model. 7 experimental groups were formed according to the active and blocker/inhibitor substances used in the study. Preliminary contraction was created with 10⁻⁵ M PHE and concentrations in the range of 10⁻⁹-10⁻⁶ M of irisin were used in all experimental groups. The data belonging to the groups were evaluated statistically and the significance level was accepted as p<0,05.

Irisin showed a statistically significant relaxant effect at concentrations of 10⁻⁸, 10⁻⁷ and 10⁻⁶ M compared to the control group (p<0,001). PKC inhibitor BIM I (p<0,001 for 10⁻⁷ M), MEK1/2 inhibitor U0126 (p<0,05 for 10⁻⁷ M), K_v blocker XE-991 (p<0,001 for 10⁻⁷ M), SK_{Ca} blocker apamin (p<0,05 for 10⁻⁷ M) and BK_{Ca} blocker TEA (p<0,001 for 10⁻⁷ M) incubations inhibited relaxation responses induced by varying concentrations of irisin. However, DMSO, which is the solvent of BIM I, U0126 and XE-991, did not affect the relaxation responses to irisin (p>0,05).

In conclusion, the first physiological findings regarding the functional relaxant effect of irisin on rat thoracic aorta have been obtained. In addition, this study is the first to report that irisin-induced relaxation responses may be associated with the activity of PKC, MEK1/2, voltage sensitive and calcium-activated K⁺ channels. Our experimental findings suggest that irisin may be a useful agent in the prevention and treatment of cardiovascular diseases associated with abnormal vasoconstriction such as hypertension and atherosclerosis.

Keywords: Irisin, vasodilation, mitogen-activated protein kinases, potassium channels, organ bath

1. GİRİŞ

İrisin, iskelet kası ve kahverengi adipoz dokudaki metabolik aktivite ile yüksek oranda ilişkili olan fibronektin tip III domain içeren protein 5 (*fibronectin type III domain containing protein 5*; FNDC5) molekülünün bir ürünü olarak türetilen yeni tanımlanmış 112 amino asitli bir hormondur (Boström et al., 2012). İrisin, beyaz adipositlerin kahverengi adipositlere dönüşümünü aktive ederek mitokondriyal biyogenez ve enerji harcamasını artırır (Boström et al., 2012; Kelly, 2012; Sanchis-Gomar, Lippi, Mayero, Perez-Quilis, & García-Giménez, 2012; Villarroya, 2012).

Dolaşımdaki irisin seviyelerinin obezite, Tip II diabetes mellitus, insülin direnci ve ateroskleroz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (J.J. Liu et al., 2013; Park et al., 2013; Stengel et al., 2013). Bu ilişkinin gösterilmesi, irisin molekülünün polikistik over sendromu (*polycystic ovary syndrome*; PCOS), obezite, diabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı, iskemik kalp hastalıkları ve hipertansiyon gibi toplumda sık görülen metabolizma ilişkili hastalıkların önlenmesinde, takibinde ve tedavi edilmesinde kullanılması olası ajanlardan birisi olabileceğini düşündürmektedir.

Bu bağlamda, son zamanlarda yapılan birçok çalışma irisinin özellikle kardiyovasküler hastalıklar üzerine potansiyel terapötik etkileri olabileceğini göstermiştir. Bu çalışmalar, yeni tanı konulan Tip II diyabetik hastalarda dolaşımdaki irisin düzeylerinin endotel-bağımlı vazodilatasyonla pozitif ilişkili olduğunu ve düşük irisin düzeylerinin obezitede endotel disfonksiyonu ile bağımsız olarak ilişkili olduğunu göstermiştir (Hou, Han, & Sun, 2015; Xiang, Xiang, Yue, Zhang, & Zhao, 2014).

Vazoreaktivite; hipertansiyon, baş ağrısı ve inme gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklarda temel öneme sahiptir (Brunner et al., 2005). Bazı çalışmalar ile irisinin periferik vazodilatatör etkisi gösterilse de, bu molekülün potansiyel vasküler aktivitesi yeterince bilinmemektedir ve vasküler düz kas kasılma-gevşeme yanıtlarına ait mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte, yeni keşfedilen bu adipomiyokin ile yapılan çalışmalar çok sayıda çelişkili sonuca sahiptir (H. Küçük, 2018; Hecksteden et al., 2013; Huh et al., 2012; Kabasakalis, Nikolaidis, Tsalis, Christoulas, & Mougios, 2019; Norheim et al., 2014; Palacios-González et al., 2015; Tavassoli, Heidarianpour, & Hedayati, 2019). Dolayısıyla, irisinin vasküler dokudaki işlevsel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmaların net bir şekilde ortaya konulabilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

İrisinin egzersiz ve metabolik homeostaz arasında bir köprü olabileceği düşünülmüştür. Bu bağlamda, başlıca iskelet kası hücrelerinden salınan egzersizle indüklenen irisinin, günümüzde sıklığı giderek artan obezite, insülin direnci ve diabetes mellitus gibi metabolik hastalıklar ile bunların sonucu gelişebilen hipertansiyon ve ateroskleroz gibi patolojilere karşı egzersizin koruyucu etkilerine aracılık edebileceği düşünülmektedir (Pang et al., 2018; Pedersen, & Febbraio, 2012; Strasser, 2013). Ancak, bu ilişkinin altında yatan mekanizmalar henüz tamamen açıklığa kavuşturulamamıştır. Egzersiz, irisin ve metabolik hastalıklar arasındaki yakın ilişki göz önüne alındığında irisinin vasküler dokudaki işlevsel etkileriyle kan basıncının düzenlenmesinde rol oynayabileceği değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada, irisinin diğer bazı damarlarda olduğu gibi sıçan torasik aortu preparatlarında da fonksiyonel etkiler oluşturabileceği varsayımından yola çıkarak; irisin konsantrasyonlarının iletim tipi bir arter olan sıçan torasik aortu halkalarında vasküler düz kas kontraktilesine etkileri ve bu etkilerde protein kinaz C (PKC), mitojenle aktive edilen protein kinaz kinaz (MEK1/2), voltaja duyarlı potasyum kanalları (K_V), küçük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları (SK_{Ca}) ve büyük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum kanallarının (BK_{Ca}) rollerinin olabileceği hipotezinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca, irisin konsantrasyonlarının sıçan torasik aortu halkalarında vasküler düz kas kasılma-

gevşeme yanıtları üzerindeki olası etkilerine ve bu etkilerde aracı olabileceği öngörülen metabolik yollara yönelik elde edilecek ilk veriler ile literatüre katkıda bulunulması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İrisin

İskelet kası son yıllarda endokrin organ olarak tanımlanmıştır (Pedersen, Akerström, Nielsen, & Fischer, 2007). Miyokinler olarak bilinen, egzersiz sırasında veya hemen sonrasında iskelet kasından salınan sitokinler, egzersizin metabolizma ve kardiyovasküler sistem üzerindeki yararlı etkilerine aracılık eder (Pedersen, & Febbraio, 2012; Strasser, 2013). İrisin miyokin sınıfındaki en büyük hormondur (Vamvini et al., 2013).

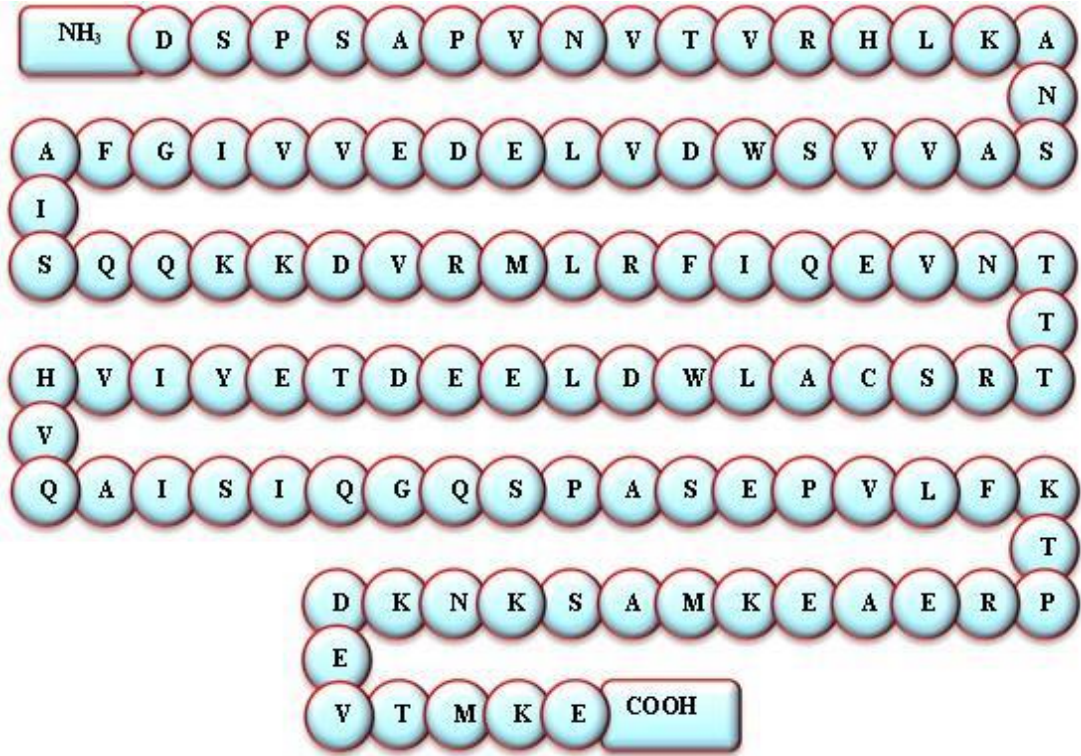
2.1.1. Tarihçesi ve İsimlendirilmesi

İrisinin varlığı Boström ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yayımlanan “*A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis*” başlıklı çalışmayla ortaya konmuştur. Yeni keşfedilen bu peptide kas dokudan diğer dokulara sinyal ilettiğinden dolayı, insanlara güzel haberler getirdiğine inanılan Antik Yunan tanrıçası İris’in adı verilmiştir (Boström et al., 2012).

2.1.2. Biyokimyasal Yapısı

FNDC5 olarak bilinen 196 amino asitli membran bazlı bir proteinin karboksi terminalinden türetilen irisin, 112 amino asitten oluşan 12,587 kDa ağırlığında peptid yapılı bir hormondur (Boström et al., 2012). İrisinin oluşumu için FNDC5 proteinini kesen enzim halen bilinmemektedir. Peptidin amino asit dizilimi “Asp - Ser - Pro - Ser - Ala - Pro - Val - Asn - Val - Thr - Val - Arg - His - Leu - Lys - Ala - Asn - Ser - Ala - Val - Val - Ser - Trp - Asp - Val - Leu - Glu - Asp - Glu - Val - Val - Ile - Gly - Phe - Ala - Ile - Ser - Gln - Gln - Lys - Lys - Asp - Val - Arg - Met - Leu - Arg - Phe - Ile - Gln - Glu - Val - Asn - Thr - Thr - Thr - Arg - Ser - Cys - Ala - Leu - Trp - Asp - Leu - Glu - Glu - Asp - Thr - Glu - Tyr - Ile - Val - His - Val - Gln - Ala - Ile - Ser -

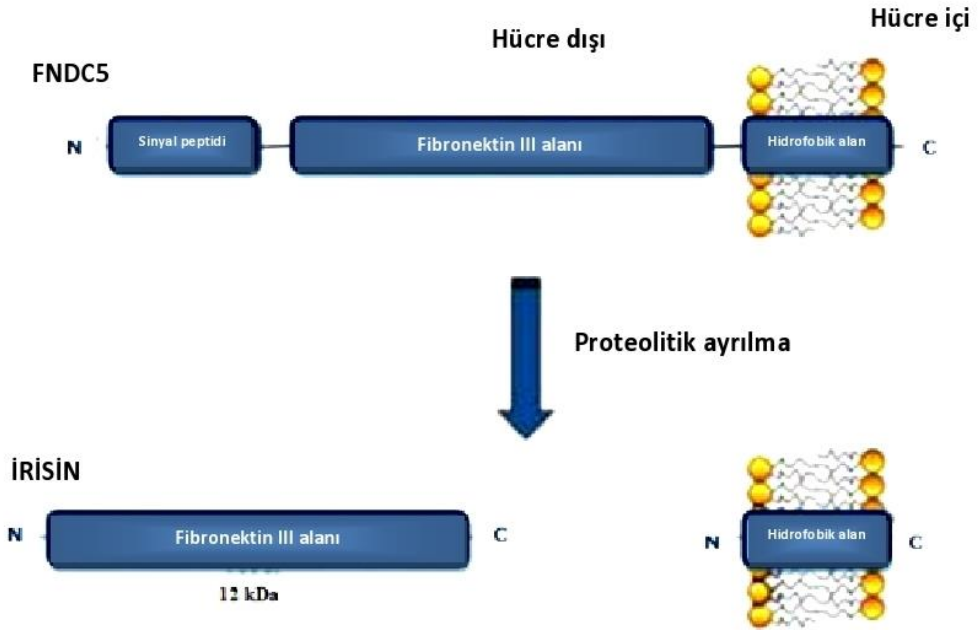
Ile - Gln - Gly - Gln - Ser - Pro - Ala - Ser - Glu - Pro - Val - Leu - Phe - Lys - Thr - Pro - Arg - Glu - Ala - Glu - Lys - Met - Ala - Ser - Lys - Asn - Lys - Asp - Glu - Val - Thr - Met - Lys - Glu” şeklindedir (Şekil 1) (Yalçın, 2018). İrisinin farklı sayıda amino asit dizisine sahip (39, 49, 53, 70 ve 112 amino asit) formları bulunmaktadır ancak hangi formunun biyolojik olarak daha aktif olduğu ve formların farklı fizyolojik rollere sahip olup olmadığı bilinmemektedir (Phoenix Pharmaceuticals Inc. [Phoenix, P], 2015).



Şekil 1. İrisin hormonunun amino asit dizilimi

Fare, sıçan ve insanda dizilim aynıdır (Yalçın, 2018).

Fare ve sıçanlarda 209 amino asitten oluşan bir protein olan FNDC5, N-terminalinde 29 amino asitli bir sinyal dizisine sahiptir; bunu, irisin veya fibronektin III (FNIII) alanı, bağlayıcı bir peptit, transmembran bir alan ve 39 amino asitli sitoplazmik bir segment takip eder (Norheim et al., 2014; Schumacher, Chinnam, Ohashi, Shah, & Erickson, 2013). FNDC5 ayrıca, fibronektin tip III tekrarlarını içeren protein 2 (FRCP2) ve peroksizomal protein (PeP) olarak da adlandırılmaktadır. Fibronektin tip III alanları genellikle beta ipliklerinin ve rastgele bobinlerin bir kombinasyonundan oluşur (Şekil 2) (Boström et al., 2012).



Şekil 2: FNDC5 molekülünün proteolitik parçalanmasıyla irisinin oluşumu (Boström et al., 2012)

İrisin iskelet kası, adipoz doku, karaciğer, pankreas, kalp ve beyin gibi doku ve organlara spesifik hücrelerin işlevini belirlemek için sinyal gönderen güçlü bir elçidir (Boström et al., 2012; S. Liu et al., 2017; Y. Zhang et al., 2014). Yapılan çalışmalarda, insan ve faredeki (*Mus musculus*) iris proteininin % 100 benzer olduğu; diğer canlılarda ise bu benzerliğin önemli düzeyde korunduğu belirlenmiştir (Şekil 3) (Boström et al., 2012).

Homo sapiens	A	I	S	Q	Q	K	D	V	R	M	L	R	F	I	Q	E	V	N	T	T	R	S	C	A	L	W	D	E	E	D	T	E	Y	I	V	H	V	Q	A	I	S	I	Q	Q	S	P	A	S	E	P	V	L	F	K	T	P
Mus musculus	A	I	S	Q	Q	K	D	V	R	M	L	R	F	I	Q	E	V	N	T	T	R	S	C	A	L	W	D	E	E	D	T	E	Y	I	V	H	V	Q	A	I	S	I	Q	Q	S	P	A	S	E	P	V	L	F	K	T	P
Danio rerio	A	I	S	Q	Q	K	D	V	R	M	L	R	F	I	Q	E	V	N	T	T	R	S	C	A	L	W	D	E	E	D	T	E	Y	I	V	H	V	Q	A	I	S	I	Q	Q	S	P	A	S	E	P	V	L	F	K	T	P
Gallus gallus	A	I	Q	Q	K	D	V	R	M	L	R	F	I	Q	E	V	N	T	T	R	S	C	A	L	W	D	E	E	D	T	E	Y	I	V	H	V	Q	S	I	S	M	S	E	T	S	P	E	P	V	L	F	R	T	P		

Şekil 3: Canlılardaki iris hormonunun sekans dizilimlerinin karşılaştırılması (Boström et al., 2012)

2.1.3. Sentezi ve Salımı

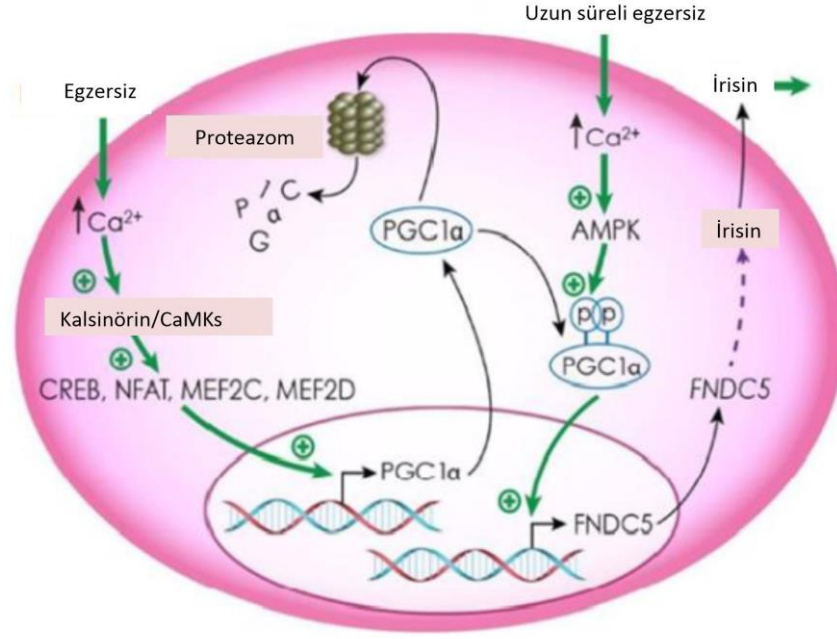
İrisinin sentezi ve salımı, egzersiz ve peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör- γ (PPAR- γ) koaktivatörü 1- α (PGC1- α) ile indüklenir. PGC1- α iskelet kası, kahverengi adipoz doku, karaciğer ve kalp gibi eksprese edildiği doku ve organlarda beslenme ve fizyolojik sinyale yanıt olarak çoklu genleri düzenleyebilen spesifik bir

transkripsiyonel koaktivatördür. PGC1- α enerji metabolizmasının programlanmasında arabulucudur ve birçok hücre tipinde mitokondriyal biyogenez ile oksidatif metabolizmayı kontrol eder (Austin, & St-Pierre, 2012; Handschin, & Spiegelman, 2008).

Yapılan çalışmalarda, transmembran FNDC5'in hücresele FNDC5'ten daha büyük olduğu belirlenmiştir. Bu durum, araştırmacıların proteinin bir parçasının salınmış olabileceğini sorgulamalarına neden olmuştur. Araştırmacılar, FNDC5'in Tip I membran proteini olarak sentezlendiği, ardından proteolitik olarak kesildiği ve proteinin amino (N) terminal kısmının ekstrasellüler ortama bırakıldığı hipotezini ortaya atmışlardır. Bu varsayımına dayanarak yapılan çalışmalar sonucunda, iskelet kasından egzersiz sırasında PGC1- α aracılığı ile FNDC5 (FRCP2/PeP) salındığını ve bu proteinin bilinmeyen bir proteaz tarafından kesilerek irisin meydana geldiğini tespit etmişlerdir (Boström et al., 2012; Novelle, Contreras, Romero-Pico, Lopez, & Dieguez, 2013).

Ayak değirmeni ile egzersiz yaptırılan farelerin “*rectus femoris*” kasından alınan biyopsilerde FNDC5 ve irisin hormonunun hücresele lokalizasyonu incelenmiştir. FNDC5 kas hücrelerinin membranında bulunurken; irisin intersellüler alanda lokalize olmuştur (Brenmoehl et al., 2014). Esas olarak, uzun süreli egzersiz PGC1- α 'nın kalp ve iskelet kasındaki ekspresyonunu artırır; daha sonra, insülin duyarlılığı ve sinyalleme gibi farklı metabolik parametreleri geliştirir; ayrıca, 5'-AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK) aktivasyonunu, PGC1- α fosforilasyonunu ve FNDC5 üretimini takiben irisin oluşumu için FNDC5'in bölünmesini sağlar (Şekil 4) (Moreno-Navarrete et al., 2013; Norheim et al., 2014; B. Xu, 2013).

Majör olarak iskelet ve kalp kasından salınan irisin otokrin, parakrin ve endokrin etkileri olan bir hormondur (Crujeiras, Pardo, & Casanueva, 2015).



Şekil 4: İrisin sentezi ve salımı için önerilen mekanizma (Norheim et al., 2014; B. Xu, 2013)

2.1.4. Dokulardaki Lokalizasyonu

İnsanlar üzerinde yapılan çalışmayla irisinin öncü formu olan FNDC5'in kas, perikardiyum, rektum ve beyin başta olmak üzere 47 farklı doku ve organda varlığı gösterilmiştir (Huh et al., 2012). İrisin ile ilgili ilk bilgiler egzersiz sırasında kas dokudan salındığı yönündedir. Ancak, daha sonra yapılan birçok çalışma kas doku dışında çok sayıda doku ve organda da irisin sentezinin olduğunu göstermiştir. Subkutan adipoz doku, beyin, kalp kası, testis, akciğer, dalak, mide, pankreas, insan anne sütü, tükürük, serebellumdaki purkinje hücreleri ve BOS'ta irisin varlığı gösterilmiştir (Aydın et al., 2014; Dun et al., 2013).

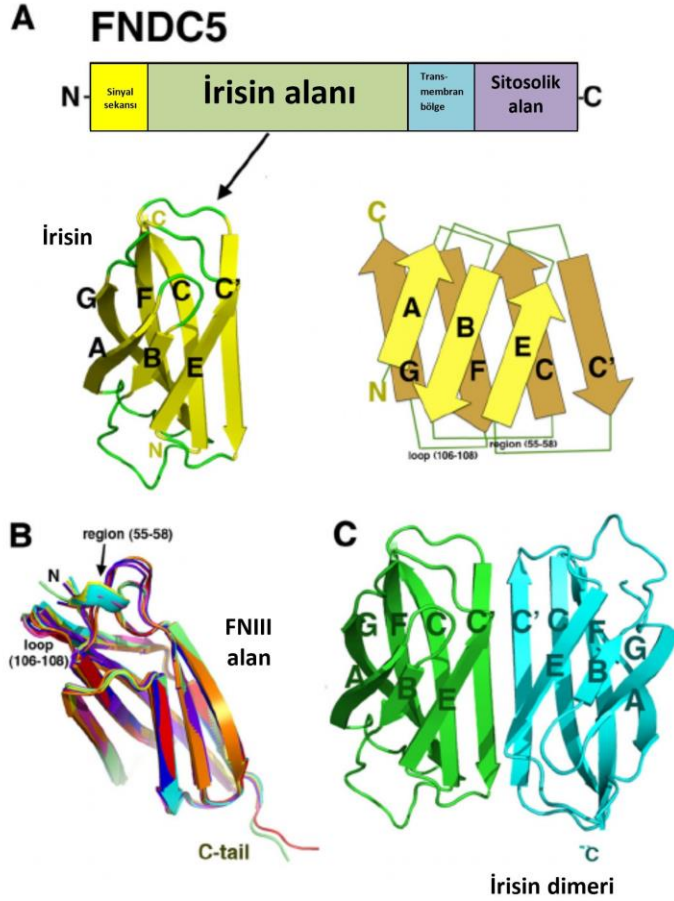
Farelerde irisinin toplam dolaşım seviyelerinin % 72'sinin kas dokudan; geriye kalan % 28'inin ise yağ dokudan kaynaklandığı düşünülmektedir (Boström et al., 2012; Roca-Rivada et al., 2013). İnsanlarda adipoz dokudaki FNDC5 ekspresyonunun, iskelet kasından 100-200 kat daha düşük olduğu ifade edilmiştir (Huh et al., 2012; Kurdiova et al., 2014; Moreno-Navarrete et al., 2013).

Serum irisin düzeyi ile ilgili standart bir değer oluşturulamamıştır (Boström et al., 2012). İrisinin plazma konsantrasyonu yapılan çalışmalarda 0,01 ng/ml ve 2000 ng/ml arasında bildirilen yoğunluklarda çok geniş bir aralıkta rapor edilmiştir

(Crujeiras et al., 2015; Elbelt, Hofmann, & Stengel, 2013; Moon, & Mantzoros, 2014; Polyzos, & Mantzoros, 2015).

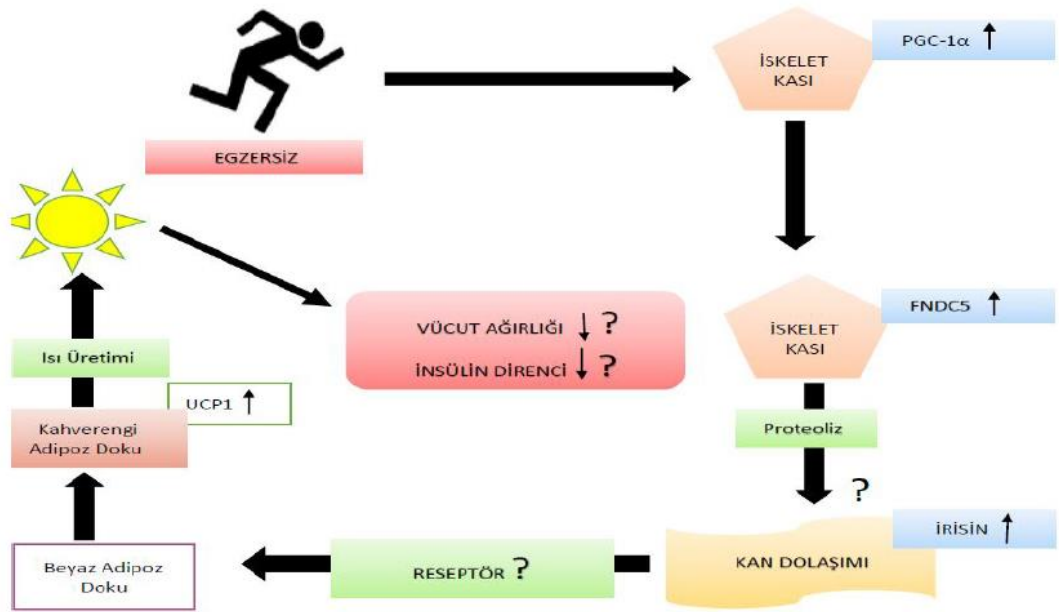
2.1.5. Reseptörü

İrisinin farklı doku ve organlardaki işlevlerini açıklamaya yönelik çalışmaların sayısı giderek artsa da; bu işlevlerin yerine getirilmesine aracılık eden irisın reseptörü veya reseptörleri halen bilinmemektedir. İrisine ait reseptörü belirlemeye yönelik yapılan ilk çalışmada, irisının bir hücre yüzey reseptörü aracılığı ile etkilerini gerçekleştirdiği ileri sürülmüştür (Boström et al., 2012). Daha sonra yapılan bir çalışmada ise, ligand-reseptör etkileşimi için önemli olabilen irisın dimerleri gösterilmiştir (Şekil 5) (Schumacher et al., 2013).



2.1.6. Etki Mekanizması

İrisinin ekspresyonu ve olası etki mekanizmaları ile ilgili tartışmalar halen devam etmektedir. Son yıllarda yapılan birçok çalışma, irisinin egzersize yanıt olarak iskelet ve kalp kası tarafından salınan bir molekül olduğunu; iskelet kası, kalp, karaciğer, beyin ve yağ dokusu için haberci olarak davrandığını öne sürmektedir (Boström et al., 2012; Chen, Li, Liu, & Jia, 2016; Roca-Rivada et al., 2013; Y. Zhang et al., 2014). Diğer birçok yeni çalışma, irisinin beyaz yağ dokusunun esmerleşmesini sağlayarak; iskelet kası ve kalpte glikoz alımını teşvik ederek; hepatic glikoz ve lipit metabolizmasını düzenleyerek ve pankreas hücre fonksiyonunu iyileştirerek insülin direncinde ve Tip II diyabette terapötik etkiler gösterebileceğini ortaya koymuştur (Şekil 6) (Hofmann, Elbelt, & Stengel, 2014; S. Liu et al., 2017; Park et al., 2013). İrisinin bu ve diğer birçok fizyolojik işlevi, p38 mitojenle aktive edilen protein kinaz (p38 MAPK) ve ekstrasellüler sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) aktivasyonu ile ortaya çıkar (Rizk, Elshweikh, & Abd El-Naby, 2016; Y. Zhang et al., 2014).



Şekil 6: Enerji harcanmasını teşvik etmek için irisinin önerilen yolu (Hofmann et al., 2014)

2.2. İrisin ve Egzersiz İlişkisi

Boström ve arkadaşları irisinin keşfini duyurdukları çalışmada, insan ve fare plazmasında farklı irisin fragmanlarının mevcut olduğunu ve iskelet kasındaki FNDC5 ifadesindeki değişimlerin bu yapıların seviyelerinde etkili olduğunu belirlemiştir. Aynı çalışmada, egzersiz sonrası iskelet kasındaki FNDC5 ekspresyon düzeyindeki artışa paralel olarak bir süre sonra dolaşımdaki irisin düzeyinin de arttığı gösterilmiştir (Boström et al., 2012).

İnsanlar üzerinde yapılan bazı çalışmalar Boström ve arkadaşlarını destekler niteliktedir. Egzersiz sonrası ilk birkaç saat içerisinde dolaşımdaki irisin düzeyinin geçici olarak yükseldiği gösterilmiştir (Kraemer, Shockett, Webb Shah, & Castracane, 2014). Başka bir çalışmada ise, dolaşımdaki irisin düzeyinin akut egzersiz ile yaklaşık % 20 oranında arttığı gösterilmiştir (Huh et al., 2012). Hecksteden ve arkadaşları hem akut hem de kronik egzersiz sonrası dolaşımdaki irisin düzeyinin anlamlı şekilde etkilenmediğini bildirmiştir (Hecksteden et al., 2013). Diğer bir çalışmada ise, kronik egzersiz sonrası PGC1- α ve FNDC5 ifadelerindeki artışa rağmen dolaşımdaki irisin düzeyinin azaldığı rapor edilmiştir (Norheim et al., 2014).

İrisin salımının egzersiz ile uyarıldığını gösteren çalışmalar olsa da; düzenli fiziksel aktivite ve egzersizin plazma irisin seviyeleri üzerine etkisiyle ilgili çalışmalar hem çocuklarda hem de yetişkinlerde halen çelişkilidir (Palacios-González et al., 2015). Akut ve kronik egzersizin irisin düzeyinde artışa neden olduğunu gösteren çalışmaların (Aydın et al., 2014; Besse-Patin et al., 2014; Brenmoehl et al., 2014; Huh, Siopi, Mougios, Park, & Mantzoros, 2015; Khalafi, Shabkhız, Alamdarı, & Bakhtıyari, 2016; H. Küçük, 2018; Y. Lu et al., 2016; Nygaard et al., 2015; Pang et al., 2018; Timmons, Baar, Davidsen, & Atherton, 2012; Tsuchiya, Ando, Takamatsu, & Goto, 2015; Zhao, Su, Qu, & Dong, 2017) aksine; anlamlı bir etkisinin olmadığını (Akcan, 2018; Arıkan, 2018; Arıkan, Revan, Balcı, Şahin, & Serpek, 2018; Benedini et al., 2017; Ellefsen et al., 2014; Hecksteden et al., 2013; Kabasakalis et al., 2019; Kurdiova et al., 2014; Pekkala et al., 2013) ve azaltıcı bir etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Jozkow et al., 2019;

Palacios-González et al., 2015; Qiu et al., 2015; Tavassoli et al., 2019; Tsuchiya et al., 2015).

Ayrıca, egzersiz sonrası irisin seviyesindeki artışlar egzersizin tipine bağlı olarak değişebilmektedir. Direnç egzersizleri dayanıklılık egzersizlerine göre irisin seviyelerinde anlamlı düzeyde daha fazla artış meydana getirmiştir (Tsuchiya et al., 2015). Bununla birlikte, farklı şiddette yapılan egzersizler sırasında artan metabolik ihtiyaca göre irisin seviyelerinin artışında değişkenlik olduğu bildirilmiştir (Daskalopoulou et al., 2014).

Egzersiz, hipertansiyon için farmakolojik olmayan önemli bir tedavi olarak görülmektedir. Ancak, bu etkinin altında yatan mekanizmalar henüz tamamen açıklığa kavuşturulamamıştır. Egzersiz sırasında başlıca iskelet kası hücreleri tarafından salınan irisinin, diabetes mellitus ve obezite gibi metabolik hastalıklarda koruyucu bir rol oynadığı düşünülmektedir. İrisin ile metabolik hastalıklar arasındaki yakın ilişki nedeniyle irisinin kan basıncının düzenlenmesinde rol oynayabileceği hipotezine dayanarak farklı tür ve damar preparatlarında bazı çalışmalar yapılmıştır.

2.3. Arterlerin Morfolojik Yapısı ve Fonksiyonu

2.3.1. Arter Duvarının Hücresel Yapısı

Çap ve fonksiyonlarına göre sınıflandırıldığında arterler üç gruba ayrılır. Aort ve kommon iliyak arter gibi büyük elastik arterler, diyastol sırasında kasılarak hidrostatik kan basıncının devamının sağlanmasına yardımcı olur. Koroner ve süperfisyal femoral arterler gibi orta ve küçük musküler arterler, kan akımı dağılımını regüle eder. Küçük arteriyoller ise, vasküler tonusu düzenler. Tüm arterler lümeden dışa doğru üç farklı tabakadan oluşur: 1- Tunika intima, 2- Tunika media, 3- Tunika adventisya. Tunika intimada bazal membran üzerine yerleşmiş tek sıra endotelial hücreler bulunur. Bu iki katmanın altında subendotelial bağ dokusu ve internal elastik lamina yer alır. Tunika intima yaşlanmayla birlikte ve ateroskleroz gibi hastalıklara sekonder olarak kalınlaşabilir (Simionescu, 1988).

Endotelial hücreler mezenkimal kaynaklı olup içerdikleri ultrastrüktürel yapılarla karakterizedir. Bu yapılar; hücreyi çeviren bir bazal lamina, pinositik

veziküller ve Weibel-Palade cisimleri olarak bilinen intrasitoplazmik yapılardır (Kossmann, & Palade, 1961). Weibel-Palade cisimleri von-Willebrand faktörü salımıyla ilgili yapılardır. Endotelyumun anjiyogenez, hemostaz, enflamasyon ve vasküler tonus regülasyonu ile ilgili kritik görevleri vardır. Ayrıca, endotelyum pinositik veziküller aracılığı ile oluşturulan bir sistemle, kanla damar duvarı arasında molekül alışverişi sağlar (Fajardo, 1989).

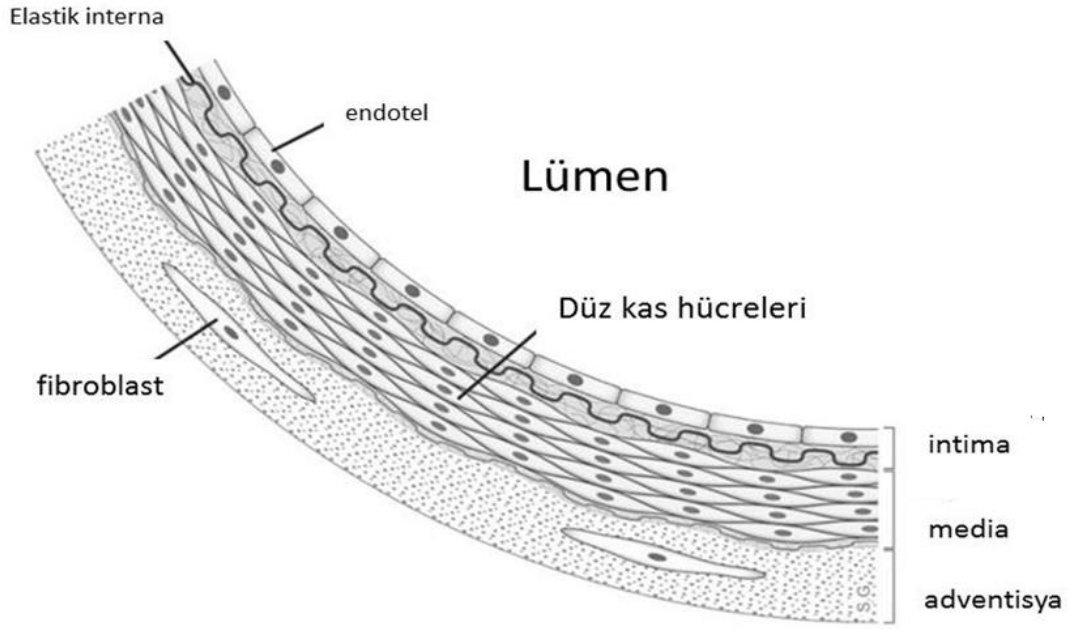
Arterin media tabakası bağ dokusu matriksi ile çevrelenmiş düz kas hücrelerinden oluşur. Bu katman, musküler arterlerde intima ve adventisya tabakalarından daha kalındır. Düz kas hücreleri aktin ve miyozin filamentleri içerir. Bu filamentlerin kontraksiyon ve relaksasyonu damar yapısının ayarlanmasını sağlar. Ayrıca, düz kas hücreleri damar duvar yapısındaki bağ dokusunun önemli bir bölümünü üretir. Media tabakasındaki düz kas hücrelerinin migrasyon ve proliferasyonu, intimal proliferasyon ve ateroskleroz patogenezinde çok önemli rol oynar (Zierler, 1994).

Adventisya tabakası eksternal laminanın dışını saran tabakadır. Adventisya tabakası içerisinde gevşek bağ dokusu, elastik fibriller, sinirler, lenfatik kanallar ve *vasa vasorum* olarak bilinen besleyici damarlar bulunur (Zierler, 1994).

2.3.2. Vasküler Düz Kas Yapısı ve Vasküler Düz Kas Hücreleri

Aktif ve esnek bir organ olan vasküler duvar, hücresel ve hücresel olmayan yapılardan oluşur. Vasküler yapıdaki temel hücreler endotelial hücreler, vasküler düz kas hücreleri (VDKH) ve fibroblastlardır (Çetin, 2011).

Kanı kalpten periferik dokulara taşıma görevine uygun olarak elastik bir yapıya sahip olan arterler içten dışa doğru üç tabakadan oluşur: intima, media ve adventisya (Şekil 7). Bu organ sabit olmayıp elemanları patofizyolojik uyarılara yanıt olarak artma-azalma şeklinde değişikliğe veya yeniden yapılanmaya uğrarlar (Çetin, 2011).



Şekil 7: Arter duvarının yapısı (Çetin, 2011)

İntakt arteriyel media ateroskleroz, hipertansiyon ve restenoz gibi kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde, damar duvarının kasılma-gevşeme, yeniden düzenlenme, onarım, büyüme ve gelişmesini içeren birçok yapısal ve fonksiyonel özelliklerinden sorumludur (Çetin, 2011).

İnternal elastik lamina tunika intimayı tunika mediadan ayırır. Tunika media katmanlar halinde sıralanan düz kas hücrelerinden oluşur (Şekil 7).

Ekstrasellüler matriks, çoğunlukla elastik fibriller ve kollajen; daha az oranda da proteoglikan içeriği ile düz kas hücrelerini bir arada tutmaktadır. Artmış elastin içeriği kalpten kanın çıkarılmasını sağlayan büyük arterlerin önemli bir özelliğidir. Bununla birlikte, rezistans damarları olarak işlev gören periferal arterler kan basıncı değişikliklerini düzenleyebilmek için tipik olarak çok sayıda düz kas hücresine sahiptir. Vasküler düz kas tonusu çeşitli biyolojik sinyaller, nörotransmitterler ve hormonlar ile kontrol edilmektedir (Stocker, & Keaney, 2004).

Yüksek derecede özelleşmiş hücreler olan VDKH'nin esas görevi kontraksiyon, damar tonusu ve kan basıncını düzenleyerek kan akımını sağlamaktır. Erişkinlerde kan damarlarındaki VDKH erişkin olmayanlara oranla daha düşük proliferasyon hızına ve sentez aktivitesine sahiptir. VDKH'nin kontraktıl aktiviteleri

için kendine özgü olan kontraktıl proteinleri, iyon kanallarını ve sinyal proteinlerini eksprese eder. VDKH aynı zamanda, ortam değişikliğine, ekstrasellüler matriks üretimine, geriye dönüşümlü şekilde hücre boyutuna, kontraktıl protein ekspresyonuna ve migrasyon yeteneklerinde değişiklik yapabilmeye yanıt verebilme özelliğine sahip olan hücrelerdir (Muto, 2007; Tarhan, 2017).

VDKH'nde yeniden farklılaşma; ateroskleroz, hipertansiyon, stent uygulanması veya by-pass sonrası restenoz gelişiminde rolü olan temel patofizyolojik mekanizmadır. Hasar durumunda, VDKH'nde migrasyon ve proliferasyonun yanı sıra kollajen, elastin ve proteoglikanları içeren ekstrasellüler matriks komponentlerinin sentez hızında artışla karakterize olan yeniden farklılaşma süreci başlar (Owens, Kumar, & Wamhoff, 2004; Tarhan, 2017).

Düz kas hücreleri genellikle mediada bulunur ancak intimadada düz kas hücrelerine rastlanır. Düz kas hücreleri insan vücudunda iki şekilde görülür (Ross, 1993; Sary, 1990; Thyberg, Hedin, Sjölund, Palmberg, & Bottger, 1990):

1- Sentetik yapı olarak bilinen erken çocukluk döneminde ve fetüste bulunan hücreler: Bu hücrelerin bölünerek çoğalma ve hücreler arası matriks bileşiminin sağlanması gibi iki esas görevi vardır.

2- Kontraktıl tip olarak bilinen ve yetişkinlerde bulunan hücreler: Kontraktıl tip düz kaslarda sitoplazmanın tamamı myofibrille doludur.

Bazı etkilere maruz kalan düz kas hücreleri mediadan intimaya göç ederek lipit fagositozu ve matriks sekresyonu başlatır. Bu durum, hücrelerin dönüşümünü stimüle eder (Sary, 1990).

2.3.3. Vasküler Düz Kasta Kasılma Mekanizmaları

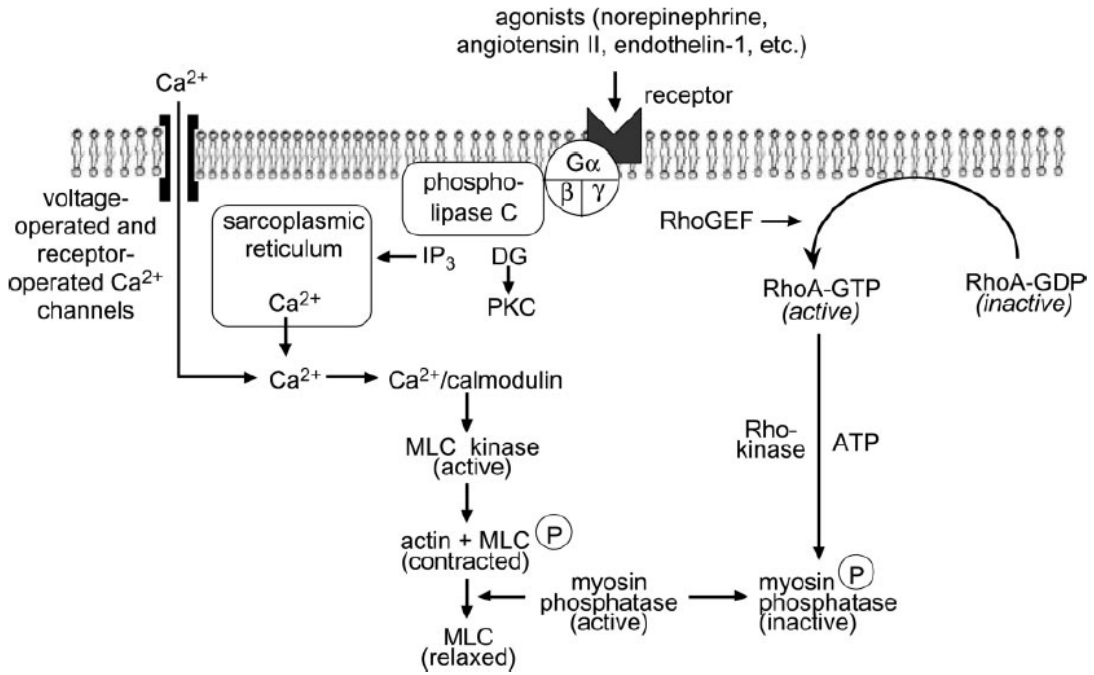
Düz kas hücresinde kasılma işlemi, reseptörler ve aktin-miyozin gibi kontraktıl proteinlerin aktivasyonu ile gerçekleşir. Aksiyon potansiyelinin başlaması veya membrandaki gerilime bağlı iyon kanallarının aktivasyonu ile oluşan membran potansiyelindeki bir değişiklik kontraksiyonu tetikler. Kasılmanın gerçekleşebilmesi için miyozin hafif zincir kinaz (MHZK) enziminin ATP yardımıyla yaklaşık 20 kDa'luk miyozin hafif zincirini fosforillemesi gerekir. Bazı düz kas hücrelerinde, miyozinin hafif zincirinin fosforilasyonu, dış uyaranların yokluğunda (reseptör ya da

mekanik aktivasyon olmadığında) düşük bir seviyede tutulur. Bu aktivite, düz kas tonusu olarak bilinmekte ve yoğunluğu dokulara göre değişebilmektedir (Webb, 2003).

2.3.3.1. Düz Kasta Ca^{+2} Bağımlı Kasılma

Düz kastaki spesifik uyarılara yanıt olarak, Ca^{+2} 'nin hücre içi konsantrasyonu artar ve bu aktivatör Ca^{+2} asidik bir protein olan kalmodulin ile birleşir. Bu kompleks, miyozinin hafif zincirini fosforile etmek için MHZK'ı aktive eder. Sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonu, hücre içi depolardan (sarkoplazmik retikulum) Ca^{+2} salınması ve ekstrasellüler alandan Ca^{+2} kanallarından içeri Ca^{+2} girişi ile daha da artar. Heterotrimerik bir membrana bağlı guanin nükleotit düzenleyici protein (G proteini) kenetli reseptöre bağlanan agonistler (norepinefrin, Ang II, ET-1 vb.) fosfolipaz C aktivitesini uyarır ve bu enzim fosfotidil inozitol-4,5-bifosfatı (PIP_2) katalize ederek iki potent ikincil haberci meydana getirir: İnozitol-1,4,5-trifosfat (IP_3) ve diaçilgliserol (DAG) (Webb, 2003).

IP_3 'ün sarkoplazmik retikulum üzerindeki reseptörlere bağlanması, Ca^{+2} 'nin sitozole salınması ile sonuçlanır. DAG, Ca^{+2} ile birlikte, spesifik hedef proteinleri fosforile eden PKC'yi aktive eder (Webb, 2003). Buna ek olarak, depo-aracılı kanal (*store-operated channel; SOC*), voltaj-bağımlı kanal (*voltage-operated channel; VOC*), reseptör-bağımlı kanal (*receptor-operated channel; ROC*), transient reseptör potansiyel (TRP) katyon kanalı ve Ca^{+2} geçirgen non-selektif katyon kanalı gibi birçok kalsiyum kanalı aktive edilerek Ca^{+2} 'nin hücre içine girişi artırılır. Ca^{+2} 'nin kalmodulin ile bağlanması Ca^{+2} -kalmodulin kompleksini meydana getirir. Bu kompleks, MHZK'da konformasyonel değişiklikleri indükler ve onu inaktif formdan aktif forma dönüştürür. Aktive olan MHZK, miyozin hafif zincirini fosforiller ve aktin-miyozin etkileşimi ile kasılma uyarılmış olur (Şekil 8) (Touyz et al., 2018).



Şekil 8: Vasküler düz kasta kasılmanın düzenlenmesi (Webb, 2003)

2.3.3.2. Ca^{+2} Duyarlılaştırıcı Mekanizma ve Düz Kas Kasılması

MHZK'nın Ca^{+2} bağımlı aktivitesine ek olarak, miyozin hafif zincirinin fosforilasyonu miyozin hafif zincir fosfataz ile düzenlenir. Miyozin hafif zincir fosfataz, düz kas gevşemesini desteklemek için yüksek enerjili fosfatını miyozin hafif zincirinden uzaklaştırmakla görevlidir. Miyozin hafif zincir fosfatazın üç alt birimi vardır: 37 kDa'luk katalitik bir alt birim, 20 kDa'luk değişken bir alt birim ve 110-130 kDa'luk miyozin bağlayıcı alt birim. Miyozin bağlayıcı alt birim fosforile olduğunda miyozin hafif zincir fosfatazın enzimatik aktivitesini inhibe ederek miyozin hafif zincirinin fosforile kalmasına izin verir. Böylece, kontraksiyonu öne çıkarmış olur (Webb, 2003).

Küçük G proteini RhoA ve onun downstream hedefi Rho kinaz, miyozin hafif zincir fosfataz aktivitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Bir serin/treonin kinaz olan Rho kinaz, miyozin hafif zincir fosfatazın miyozin bağlayıcı alt birimini fosforilleyerek aktivitesini inhibe eder ve böylece miyozin hafif zincirinin fosforile durumda kalmasını sağlar. Rho kinazın fasudil ve Y-27632 gibi farmakolojik inhibitörleri enzimin ATP bağlanma bölgesini kompetitif olarak inhibe ederler. Rho kinaz inhibisyonu, birçok farklı agonistle kasılmış izole düz kas segmentlerinin

gevşemesini sağlar. Hayvanlarda Rho kinazın farmakolojik inhibitörlerinin, arterlerde düz kas gevşemesine neden olduğu ve kan basıncını düşürücü bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Chitaley, Weber, & Webb, 2001).

Bununla birlikte, hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonundaki artış geçicidir ve kontraktıl yanıt, miyozin fosfataz aktivitesinin Rho kinaz tarafından inhibe edilerek sağladığı bir Ca^{+2} duyarlılaştırıcı mekanizma ile korunmaktadır. Bu Ca^{+2} duyarlılaştırıcı mekanizma, fosfolipaz C'nin aktive edilmesiyle eşzamanlı olarak başlatılır ve küçük GTP bağlayıcı protein RhoA'nın aktivasyonunu içerir (Webb, 2003).

RhoA'nın G proteini-bağlı reseptör tarafından aktivasyonunun kesin nedeni tamamen açık değildir; ancak, bir guanin nükleotit değişim faktörü (RhoGEF) ve RhoA'nın plazma zarına göçünü içerir. Aktivasyon üzerine RhoA, Rho kinaz aktivitesini artırarak miyozin fosfatazın inhibisyonuna yol açar ve bu da kasılma durumunu destekler. Çünkü, bu durumda miyozinin hafif zinciri fosforillenemez. RhoGEF proteinlerinin artan ekspresyonu ve/veya aktivitesinin, düz kas kasılma aktivasyonunu artırabilmesi nedeniyle bazı hastalıkların (astım, hipertansiyon vb.) patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir (Şekil 8) (Webb, 2003).

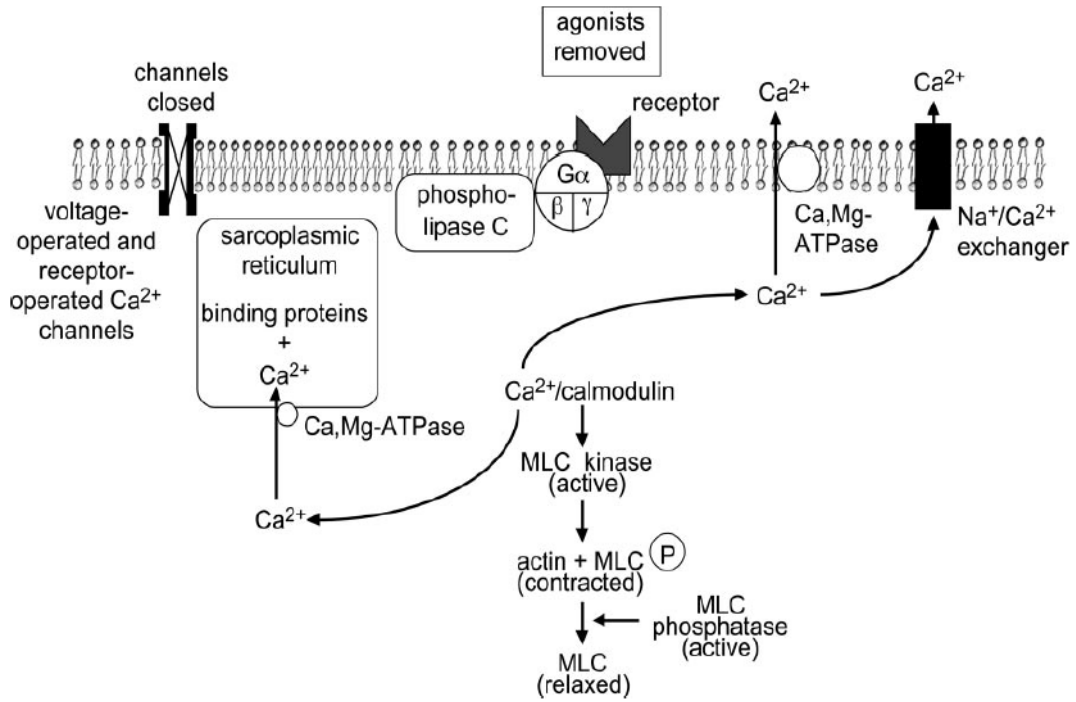
2.3.4. Vasküler Düz Kasta Gevşeme Mekanizmaları

Düz kas gevşemesi, kasılma uyarıcısının ortadan kaybolması ya da kasılma mekanizmasının inhibisyonunu uyaran bir maddenin doğrudan etkisinin sonucu olarak ortaya çıkar. Her iki durumda da gevşeme süreci, hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun düşmesini ve miyozin hafif zincir fosfataz aktivitesinin artmasını gerektirir (Sah, Seasholtz, Sagi, & Brown, 2000).

Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu düşüren veya miyozin hafif zincir fosfataz aktivitesini artıran mekanizmalar düz kas gevşemesine katkıda bulunur. Hücre içi aktivatör Ca^{+2} konsantrasyonunun azalması vasküler düz kas gevşemesini ortaya çıkarır. Sitolitik Ca^{+2} 'nin uzaklaştırılmasında çeşitli mekanizmalar bulunur ve bu olaya sarkoplazmik retikulum ile plazma membranı dahil olur. Sarkoplazmik retikulum içine Ca^{+2} alımı ATP hidrolizine bağlıdır. Sarkoplazmik retiküler Ca^{+2}/Mg^{+2} -ATPaz (Kalsiyum/Magnezyum-ATPaz) fosforile edildiğinde, daha sonra

sarkoplazmik retikulumun luminal tarafına translokasyona uğrayan ve salıverilen iki Ca^{+2} iyonunu bağlar. Magnezyum, enzimin aktivitesi için gereklidir ve reaksiyona aracılık etmek için ATPaz'ın katalitik bölgesine bağlanır. Sarkoplazmik retiküler Ca^{+2}/Mg^{+2} -ATPaz birkaç farklı farmakolojik ajan tarafından inhibe edilir: vanadat, thapsigargin ve siklopiazonik asit. Ayrıca, sarkoplazmik retiküler Ca^{+2} bağlayıcı proteinler de hücre içi Ca^{+2} seviyesinin azalmasına katkıda bulunur. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, kalsekstrin ve kalretikulini düz kasta sarkoplazmik retiküler Ca^{+2} bağlayan önemli proteinler olarak tanımlamıştır. Plazma membranı da hücrede aktivatör Ca^{+2} konsantrasyonunu azaltmak için ek bir mekanizma sağlayan Ca^{+2}/Mg^{+2} -ATPaz içerir. Bu enzim, sarkoplazmik retiküler proteinden farklıdır. Çünkü, bu enzim plazma membranında Ca^{+2} pompasının stimülasyonuna neden olan kalmodulin tarafından bağlanabilen otoinhibitör bir alana sahiptir (Webb, 2003).

Plazma membranında bulunan Na^{+}/Ca^{+2} değiştiricisi de hücre içi Ca^{+2} 'nin azaltılmasına yardımcı olur. Bununla birlikte, daha önce bahsedilen kontraksiyonda görevli ROC ve VOC gibi kanalların inhibe edilmesi vasküler düz kas gevşemesini ortaya çıkarır. Dihidropiridin, fenilalkilamin ve benzotiyazepin gibi kanal antagonistleri, kanal proteini üzerinde farklı reseptörlere bağlanarak düz kasta Ca^{+2} girişini inhibe ederler (Şekil 9) (Webb, 2003).



Şekil 9: Vasküler düz kasta gevşemenin düzenlenmesi (Webb, 2003)

2.4. Arteriyel Tonus Regülasyonu

Arteriyel tonus, VDKH'nin vazodilatasyonu ve vazokonstriksiyonu arasındaki denge ile belirlenir. Endotel, arteriyel tonusun kontrolünde çift etkili bir fonksiyona sahiptir; farklı uyarıcılara yanıt olarak hem gevşetici faktörleri [nitrik oksit (NO), prostasiklin (PGI₂), hiperpolarize edici faktörler gibi] hem de kasıcı faktörleri [anjyotensin II (Ang II), endotelin-1 (ET-1), prostaglandin F₂ alfa (PGF_{2α}), tromboksan A₂ (TXA₂) ve süperoksit gibi] salgılar (Ketonen, 2010). Damar tonusu, bu faktörler arasındaki dengeye ve VDKH'nin bunlara cevap verme yeteneğine bağlı olarak düzenlenir (Vanhoutte, 1989). Sağlıklı bir endotel, arteriyel tonus ve kan viskozitesinin devamlılığını sağlar; anormal kan pıhtılaşmasını ve kanamayı engeller; enflamasyonu sınırlar ve düz kas hücre proliferasyonunu baskılar. Sağlıklı olmayan bir endotelde ise, artmış enflamasyon; vasküler düz kas hücre hipertrofisi; tromboz ve aterosklerotik plak oluşumuna eğilim ve vazokonstriksiyon görülür. Büyük arterlerde endotel regülasyonundaki bozulma, sistol sırasında kalbin iş yükünü artıran arteriyel sertliğe yol açar. Ayrıca, periferik arterlerde endotel bütünlüğünün bozulması anormal vazomotor tonusuna ve kan basıncının artmasına neden olur (Ketonen, 2010).

2.5. İrisinin Vasküler Düz Kas Gevşetici Etkisinde Rol Oynayan Olası Mekanizmalar

2.5.1. Protein Kinaz C

Hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonundaki artışlar arteriyel düz kas hücrelerinin kasılmasına neden olur ve buna bağlı olarak da kan basıncı yükselir (McCarron, Chalmers, Bradley, MacMillan, & Muir, 2006; Nelson, Patlak, Worley, & Standen, 1990). Arteriyel düz kas hücrelerinde membran potansiyeli ve kalsiyum, depolarizasyon ile yakın ilişkilidir. Bu bağlamda, voltaj-kapılı Ca^{+2} kanallarının artmış aktivitesi sitozolik Ca^{+2} ve damar tonusunda artışa neden olur. ATP'ye duyarlı potasyum kanalları (K_{ATP}), K_V , kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları (K_{Ca}) ve içeri doğrultucu K^+ kanallarının (K_{ir}) aktivitesinden kaynaklanan membranın K^+ a nispeten yüksek geçirgenliği membran potansiyelini belirleyen ana faktördür (Standen, & Quayle, 1998). Dolayısıyla, K^+ kanallarının aktivasyonu membran hiperpolarizasyonu ve vazodilatasyona neden olur iken; inhibisyonu depolarizasyona neden olur (Korovkina, & England, 2000; Nelson, & Quayle, 1995).

Ang II ve ET-1 gibi birçok vazokonstriktör, fosfolipaz C'nin aktivasyonuna neden olan reseptörlerle ($G_q/11$ -çift) membrandaki PIP_2 'den IP_3 ve DAG üretimine neden olur. Elde edilen IP_3 , sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} depolarından Ca^{+2} salınmasına neden olur. DAG ise, PKC'yi aktive eder. Ang II ve ET-1, sıçan mezenterik arteriyel düz kas hücrelerindeki K_{ATP} ve K_V 'yi PKC'ye bağlı bir şekilde inhibe eder (Hayabuchi, Davies, & Standen, 2001; Hayabuchi, Standen, & Davies, 2001; Rainbow et al., 2009).

T-tipi Ca^{+2} kanalları membran dinlenim potansiyeline yakın depolarizasyonlarla aktive olur ve hücre içi kalsiyum iyon konsantrasyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar. T-tipi Ca^{+2} kanallarının anormal ekspresyonu, epilepsi ve nörojenik ağrı gibi patolojik durumlara yol açabilir (Y. Zhang et al., 2011).

PKC'ye bağlı kinazlara (PKD ve PKN) ek olarak, en az 10 izotip memeli PKC'si tespit edilerek üç alt gruba ayrılmıştır: konvansiyonel PKC (cPKC), yeni PKC (nPKC) ve atipik PKC (aPKC). PKC'nin katalitik alanı korunmuş olsa da, üç

alt grubun farklı düzenleyici alanları vardır. PKC'nin orijinal aktivatörleri fosfatidilserin, DAG ve Ca²⁺ iyonudur (Kishimoto, Takai, Mori, Kikkawa, & Nishizuka, 1980).

PKC'nin fizyolojik işlevi üç olayla kontrol edilir: olgunlaşma, katalitik aktivasyon ve hedefleme. Olgunlaşmamış PKC katalitik olarak aktive edilemez. PKC'nin üç korunmuş fosforilasyon bölgesi enzimin katalitik aktivitesini, stabilitesini ve hücre içi lokalizasyonunu kontrol etmede önemli rol oynar. Bu bölgelerin fosforilasyonu ile regüle edilen PKC, sitoplazmada lokalize olur ve fizyolojik uyarılara duyarlı bir forma dönüşür. Bu olgun PKC, çeşitli reseptörlerin uyarılması ve birkaç aktive ediciyle katalitik olarak aktive edilebilir ve plazma membranı, golgi kompleksi, nükleer membran ve çekirdek dahil olmak üzere spesifik subsellüler bölmelere hedeflenebilir (Shirai, & Saito, 2002).

Fosfatidilserin tüm PKC'lerin katalitik aktivitesi için gereklidir. Fosfatidilserinin C1 veya C2 alanlarına bağlandığı düşünülmektedir ancak spesifik bağlanma yeri tanımlanamamıştır. Kalsiyum iyonları cPKC'lerin C2 alanı ile aktivitesini düzenler. DAG ve forbol ester ise, C1 alanına bağlanarak cPKC ve nPKC'leri aktive eder (Nishizuka, 1998). PKC'nin enzimatik aktivitesi tirozin fosforilasyonu ile engellenir (Denning, Dlugosz, Howett, & Yuspa, 1993).

2.5.2. Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinazlar

Serin/treonin protein kinazlar olarak mitojenle aktive edilen protein kinazlar (MAP Kinaz'lar; MAPK'lar) klasik olarak üç alt aileden oluşur (Platanias, 2003):

1- ERK ailesi (alt tipleri; ERK1, ERK2, ERK4)

2- *c-Jun N-terminal kinase* (JNK) ailesi (alt tipleri; JNK1, JNK2, JNK3)

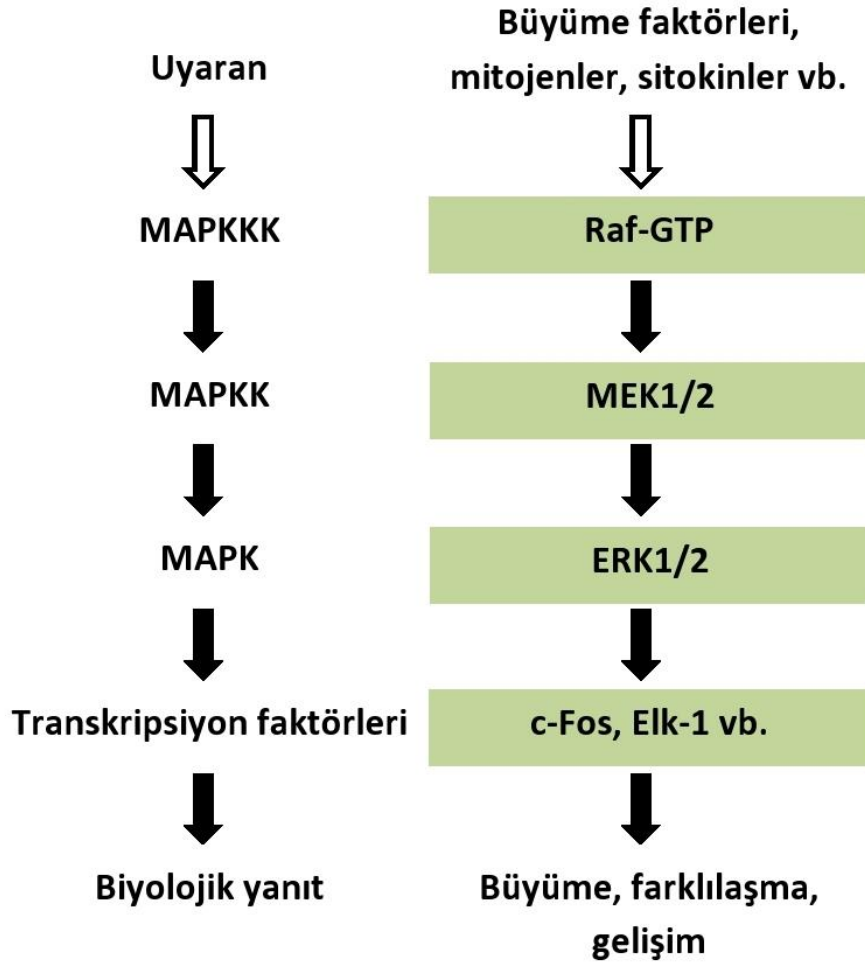
3- p38 MAPK ailesi (alt tipleri; α , β , γ , δ)

MAP Kinaz'lar tüm ökaryotik hücrelerde art arda üç aktif kinazdan oluşan bir kaskad sisteminde yer alır. MAPK'lar bu üçlü kinaz düzenleyici yolda MAP Kinaz Kinaz'lar (MAPKK'lar) tarafından treonin ve tirozin kalıntıları üzerinden fosforillenecek şekilde aktive edilir. MAPKK'lar ise, MAP Kinaz Kinaz Kinaz'lar (MAPKKK'lar) olarak adlandırılan bir grup serin/treonin kinaz tarafından fosforillenecek şekilde etkinleştirilir (Garrington, & Johnson, 1999). Bu üçlü kinaz

düzenleyici yol, sinyali hedef efektörlere ulaştırır ve paralel sinyal ileti yollarından gelen bilgiyi koordine ederek sinyalin amplifikasyonunu sağlar. Mitojenler, büyüme faktörleri, sitokinler, forbol esterleri, ozmotik şok, iyonize radyasyon, stres uyaranları vb. uyaranlar MAPK'ların etkinleşmesine neden olabilir (Roux, & Blenis, 2004).

MAPK'ların aktive olabilmesi için hem treonin hem de tirozin yapılarının fosforillenmesi gerekir. Treonin ve tirozin yapıları her bir MAPK için farklı tripeptit yapıları üzerinde yer alır. Bu tripeptit yapıları ERK için treonin-glutamik asit-tirozin, JNK için treonin-prolin-tirozin ve p38 için treonin-glisin-tirozin şeklindedir (C. Dong, Davis, & Flavell, 2002). Treonin ve tirozin yapılarından fosfatın uzaklaştırılması ile MAPK'ların etkinliği ortadan kalkar (Kleinert et al., 2000).

MAPK'lar yer aldıkları üçlü kinaz düzenleyici yolda değişik MAPKKK'lar ve MAPKK'lar tarafından fosforillenerek aktive edilir. MAPK sinyal yolağının aktivasyonu Ras (*Rat sarcoma*) aktivasyonu ile başlar. Daha sonra, kinaz kaskadı Raf (*Rapidly accelerated fibrosarcoma*; MAPKKK; MEK Kinaz), MEK1/2 (MAPKK; MAP/ERK Kinaz) ve ERK1/2 (MAPK) proteinlerinin aktivasyonu ile devam eder (Şekil 10) (Z. Lu, & Xu, 2006).



Şekil 10: MAPK sinyal yolağı

Hücre dışından gelen bir sinyal ile uyarılmamış hücrelerde Ras proteinleri inaktif (Ras-GDP) halde bulunur. Hücrenin uyarılması sonucunda GDP'nin yerine GTP bağlanır ve Ras proteinleri aktif (Ras-GTP) duruma geçer. Ras proteinlerinin aktive olabilmesi için membrana yerleşmesi gerekir. Aktive olan Ras proteinleri, Raf kinazlara yüksek afinite ile bağlanır ve onların aktivasyonunu sağlar. Raf kinazların aktivasyonunun ardından sırasıyla MEK1/2 ve ERK1/2 aktive olur. Etkinleştirilen ERK1/2 ise, nukleusa geçerek hücre gelişimi, farklılaşmayı veya mitozu teşvik eden genlerin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörlerini (c-Fos, Elk-1 vb.) aktive eder (Şekil 10) (Kolch, 2000).

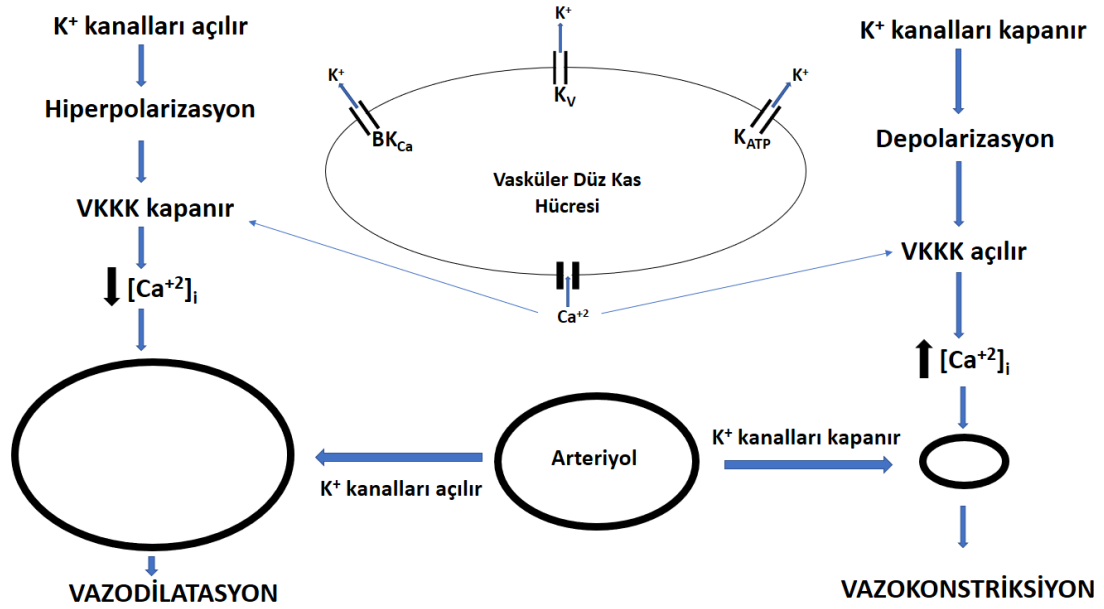
ERK1/2'nin MEK1/2 tarafından fosforilasyonunu spesifik olarak inhibe eden PD98059 ve U0126 gibi bileşikler geliştirilmiştir. PD98059 yalnızca etkin olmayan MEK1/2'nin aktivasyonunu önlerken; U0126 hem etkin hem de etkin olmayan MEK1/2'yi inhibe eder. Ayrıca, U0126 PD98059'dan daha güçlü bir inhibitör ve daha az toksik bir bileşiktir (B. Jiang et al., 2004; Pelaia et al., 2003).

MAPK'lar ile vasküler düz kas kasılması arasında bir ilişki olduğu da bildirilmiştir. Noradrenalin ile α_1 -adrenerjik reseptörlerin uyarılmasının zamana bağımlı olarak ERK1/2 fosforilasyonunda artışa yol açtığı gösterilmiştir (Hu, Shi, Lin, Chen, & Hoffman, 1999). Kalsiyumla oluşturulan 20 kDa'luk miyozin hafif zinciri (*20 kDa Light Chain; LC20*) fosforilasyonundan bağımsız olarak oluşan vasküler düz kas kasılmasında, ERK aktivasyonu ile kasılma arasında bir ilişki olduğu ve bu ilişkinin kaldezmon fosforilasyonu aracılığıyla olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca, MAPK fosforilasyonunun kalsiyumdan bağımsız mekanizmalarda yer alarak vasküler tonusun korunmasında rolü olduğu ileri sürülmüştür (Dessey, Kim, Sougnez, Laporte, & Morgan, 1998). MAPK'ların vasküler düz kasta kalsiyum duyarlılaşmasında rolü olabileceği de bildirilmiştir (Cain, Tanner, & Khalil, 2002). ERK1/2 tarafından kaldezmon proteininin fosforilasyonunun, vasküler düz kasta kasılmanın sürekliliğine katkıda bulunduğunu ileri süren başka çalışmalar da bulunmaktadır (D'Angelo, & Adam, 2002).

2.5.3. Potasyum Kanalları

K^+ kanalları, iyon kanalları arasında en yaygın bulunan ve çok çeşitli alt gruplara sahip bir iyon kanal tipidir (Lawson, & McKay, 2006). Bu kanallar membran potansiyelinin kontrol edilmesinde, aksiyon potansiyelinin şeklinin ve süresinin belirlenmesinde, hormon salımının düzenlenmesinde, epitelyal işlevde ve uyarıcı sinyallerin azaltılması gibi birçok fizyolojik süreçte rol oynar (Jackson, 2017). Plazma membranı yapısına karışan K^+ kanalları, genellikle hücre içinden dışına doğru K^+ iyonu akışına izin verir. Fizyolojik koşullarda, bu kanallar saniyede 106-108 arasında K^+ iyon geçişine izin veren (iletkenlik açısından ~3 pS ila ~300 pS'ye eşdeğer) seçici gözenekler içerir (González et al., 2012). VDKH'nin membran dinlenim potansiyelinden sorumlu olan esas iyonik akış, hücrenin dışına doğru K^+ akışıdır (Nelson et al., 1990). Bu akışın engellenmesi sonucunda sırasıyla membran

depolarize olur; voltaj-kapılı kalsiyum kanalları açılır; hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunda artış olur; vasküler düz kas kasılır ve vazokonstriksiyon oluşur. Aksine, K^+ kanallarının açılması sonucunda membran hiperpolarizasyonu gelişir; voltaj-kapılı kalsiyum kanallarının kapanması ile birlikte hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu azalır ve vazodilatasyon oluşur (Şekil 11) (Yildiz, 2007). Şimdiye kadar tüm vücutta 16'dan fazla K^+ kanal tipi tanımlanmış olsa da, bunların fizyolojik işlevleri halen iyi bilinmemektedir (Afsar, Hemsinli, Ozyazgan, Akkan, & Arslan, 2016). VDKH'nde tanımlanan 5 tip K^+ kanalı; K_{ATP} , K_V , K_{Ca} , K_{ir} ve daha az bilinen iki porlu K^+ kanallarıdır (K_{2P}). Bu kanalların etkinliği fizyolojik ve farmakolojik mediyatörler ile değişmektedir. Staurosporin (K_V), hidroklorotiazid (BK_{Ca}), ve kromakalim (K_{ATP} ve K_{ir}) gibi K^+ kanal açıcıları veya 4-aminopiridin (K_V), iberiotoksin (BK_{Ca}), glibenklamid (K_{ATP}) ve baryum klorür (K_{ir}) gibi blokerler kanal işlevlerini etkiler (Afsar et al., 2016; Baranowska, Kozłowska, Korbut, & Malinowska, 2007). K^+ kanalı gen diziliminde gerçekleşen mutasyonlar çeşitli klinik bozukluklara neden olur (Olschewski et al., 2017). Ayrıca, bu kanalların transmembranal alanlarına göre sınıflandırması da yapılmıştır. Kanal gruplarının her biri alt ailelere ayrılmıştır (Olschewski, 2010; Zhong, Wang, Liu, & Zhu, 2013).



Şekil 11: K^+ kanallarının vasküler tonusa etkileri

VKKK: Voltaj-kapılı kalsiyum kanalları, $[Ca^{+2}]_i$: Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu

2.5.3.1. Kalsiyumla Aktive Edilen Potasyum Kanalları

Kalsiyumla aktive edilen K^+ kanalları ilk olarak nöronlarda 1972 yılında Meech tarafından gösterilmiştir (Meech, 1972). K_{Ca} ; düz kas, epitelyum, nöron ve endotelyum dahil olmak üzere farklı dokularda yaygın olarak sentezlenen bir K^+ kanalı tipidir (Carvalho-de-Souza, Varanda, Tostes, & Chignalia, 2013). Bu kanallar, uyarılabilirlik, düz kas kasılma süreçleri ve Ca^{+2} homeostazı gibi çeşitli hücrel işlevlerle ilgilidir. Hem membran depolarizasyonu hem de hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu artışı ile aktive olan K_{Ca} , tek kanal iyon iletim hızına göre üç ana kategoriye ayrılır: BK_{Ca} ($\geq 200-300$ pS), orta kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları (IK_{Ca}) ($\sim 32-39$ pS) ve SK_{Ca} ($\sim 4-14$ pS) (Brayden, 1996; Ko, Han, Jung, & Park, 2008). Endotelyum hücrelerinde SK_{Ca} ve IK_{Ca} sentezi daha fazladır. K_{Ca} 'nın üç tipi, farklı elektrofizyolojik özellikleri ve doku dağılımları nedeniyle farklı fizyolojik veya patolojik işlevlere sahiptir. Vasküler düz kaslarda en çok sentezlenen K_{Ca} tipi, vasküler tonusun çok önemli bir belirleyicisi olan BK_{Ca} 'dır (Şekil 12) (Holland, Langton, Standen, & Boyle, 1996).

BK_{Ca} kompleksi, tek başına α alt birimlerinden (KCNMA1 geni ile kodlanır) veya yardımcı alt birimler olan dokuya özgü β (KCNMB1 geni ile kodlanır) ve γ alt birimleri ile birlikte sentezlenir (Guéguinou et al., 2014). Bu kanalların por yapısını oluşturan, Ca^{+2} ve voltaj-duyarlı hale gelmelerini sağlayan temel yapı 4 adet α -alt biriminden oluşur (H. Xu et al., 2015). Bununla birlikte, şimdiye kadar memelilerde sentezlenen 4 farklı β -alt birimi ($\beta 1, \beta 2, \beta 3, \beta 4$) ve 4 farklı γ -alt birimi ($\gamma 1, \gamma 2, \gamma 3, \gamma 4$) tanımlanmıştır. BK_{Ca} etkinliği ayrıca; yardımcı β ve γ alt birimleri, araşidonik asitler, NO, protein kinaz A (PKA), PKC ve protein kinaz G (PKG) gibi birçok mekanizma ile düzenlenir. Alt birimlerden gen ifadesi daha baskın olan $\beta 1$, BK_{Ca} 'nın Ca^{+2} ve voltaja olan duyarlılığını yükseltmektedir (Grimm, & Sansom, 2010; Jackson, 2017).

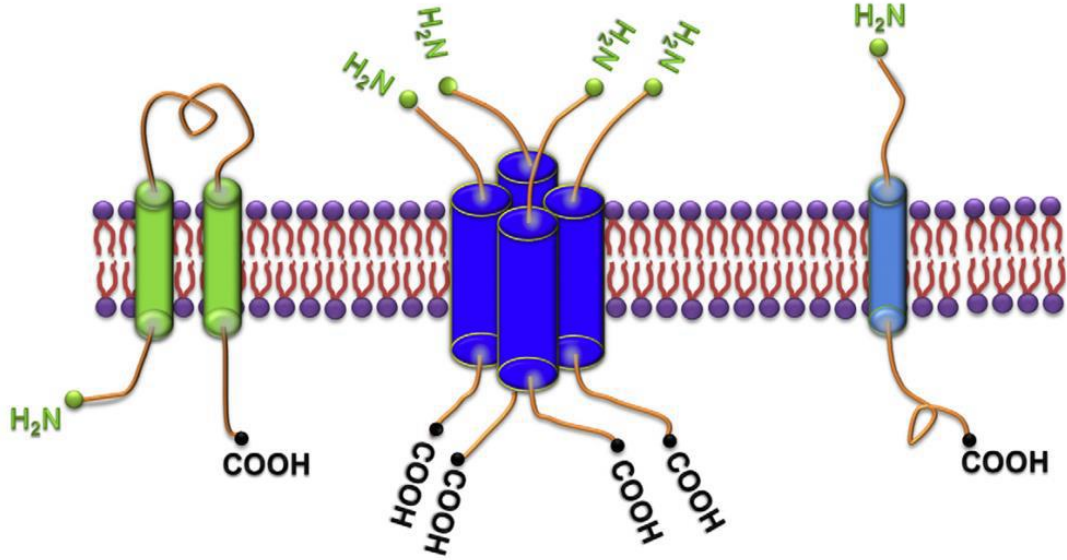
BK_{Ca} membran depolarizasyonu ve hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu artışı ile aktive olmaktadır. Hücre içi depolar ve L-tipi voltaj-kapılı kalsiyum kanalları aracılığı ile hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun artması sonucu BK_{Ca} aktive olur ve hücre dışına önemli konsantrasyonda K^+ atılımı ile membran hiperpolarizasyonu gerçekleşir. Daha sonra, voltaj-kapılı kalsiyum kanallarının kapanması ile hücre içi

Ca⁺² konsantrasyonu azalır ve vazodilatasyon gerçekleşir. Tam tersi durumda, BK_{Ca} inhibisyonu ve membran depolarizasyonu sonucu voltaj-kapılı kalsiyum kanallarının etkinleşmesi ile hücre içi Ca⁺² konsantrasyonu artar ve vazokonstriksiyon gerçekleşir (H. Xu et al., 2015). Bu kanallar birçok endojen/eksojen damar kasıcı ve gevşetici etkenin hedefidir. Birçok vazoaaktif madde BK_{Ca} aracılı etkinlik gösterir. Hücre içine Ca⁺² akışını sağlayan diğer bir kanal türü olan sarkoplazmik retikulum üzerindeki ryanodin reseptörleri (RyRs), hücre içine Ca⁺² salarak BK_{Ca} etkinleşmesi ile vazodilatasyonu uyarır (Yamada, 2016). Beta reseptör agonistleri; adenilat siklaz, siklik adenzin monofosfat (cAMP), PKA yolları aracılığıyla BK_{Ca}'nın etkinleşmesini sağlar. Ancak, kalp kası hücrelerinde BK_{Ca} sentezi daha az olduğu için adenilat siklaz, cAMP, PKA yolları ile voltaj-kapılı kalsiyum kanalları daha çok aktive olur ve hücre içi Ca⁺² konsantrasyonundaki artış ile kalp kası hücrelerinin kasılabilirliği artar (D-L. Dong, Bai, & Cai, 2016). BK_{Ca} spesifik inhibitörleri olan iberiotoksin ve karibdotoksin, BK_{Ca}'nın α alt birimlerine bağlanarak kanal etkinliğini inhibe etmektedir (Eichhorn et al., 2007; Nelson et al., 1990).

BK_{Ca}'nın esas fizyolojik rolü, Ca⁺² bağımlı gevşeme mekanizması ile aşırı damar kasılmasını önleyerek (negatif-feedback etki) vasküler tonusu korumasıdır. Ryanodin (10 μ M) ve tapsigargin (100 nM) sarkoplazmik retikulumdan Ca⁺² salımının inhibisyonu ile BK_{Ca} akımını inhibe eder (Imura, Shiraishi, Katsuya, & Itoh, 1998; Novakovic et al., 2015). Küçük miyojenik serebral arterlerde hücre içi Ca⁺² konsantrasyonu artışının BK_{Ca}'yı aktive etmesi ile gevşeme oluşurken; bu arter hücrelerinin ryanodin ve tapsigargin tarafından depolarize edilmesi ile oluşan kasılmanın K⁺ kanal blokerleri tarafından üretilenler ile benzer ölçüde olduğu bildirilmiştir (Cheng et al., 2016; Nelson et al., 1995).

Farklı tür ve damarlarda BK_{Ca} üzerine yapılan çok sayıda çalışma mevcuttur (Bondarenko et al., 2018; Chanda et al., 2016). Esansiyel bir amino asit olan taurinin izole edilmiş insan radyal arterini, sıçan mezenterik arterini ve sıçan renal arterini BK_{Ca} etkinleşmesi ile gevşettiği gösterilmiştir (Niu et al., 2008; Ulusoy et al., 2017). Testosteronun BK_{Ca} etkinleşmesi ile varikoselli hastalardan alınan testis venlerinde (internal spermatik ven) gevşeme yaptığı bildirilmiştir (Seyrek et al., 2011). Ayrıca, sıçan mezenterik arterinde BK_{Ca}'nın kannabinoid CB1 reseptörleri ile eşyapılı

olduğu immünohistokimyasal boyama yöntemiyle gösterilmiş ve CB1 agonisti araşidonilsiklopropilamid (ACPA) ile oluşturulan gevşemenin CB1 reseptörleri ve BK_{Ca} etkileşmesi sonucu gerçekleştiği ortaya koyulmuştur (López-Dyck et al., 2017).



Şekil 12: BK_{Ca}'nın şematik yapısı (D-L. Dong et al., 2016)

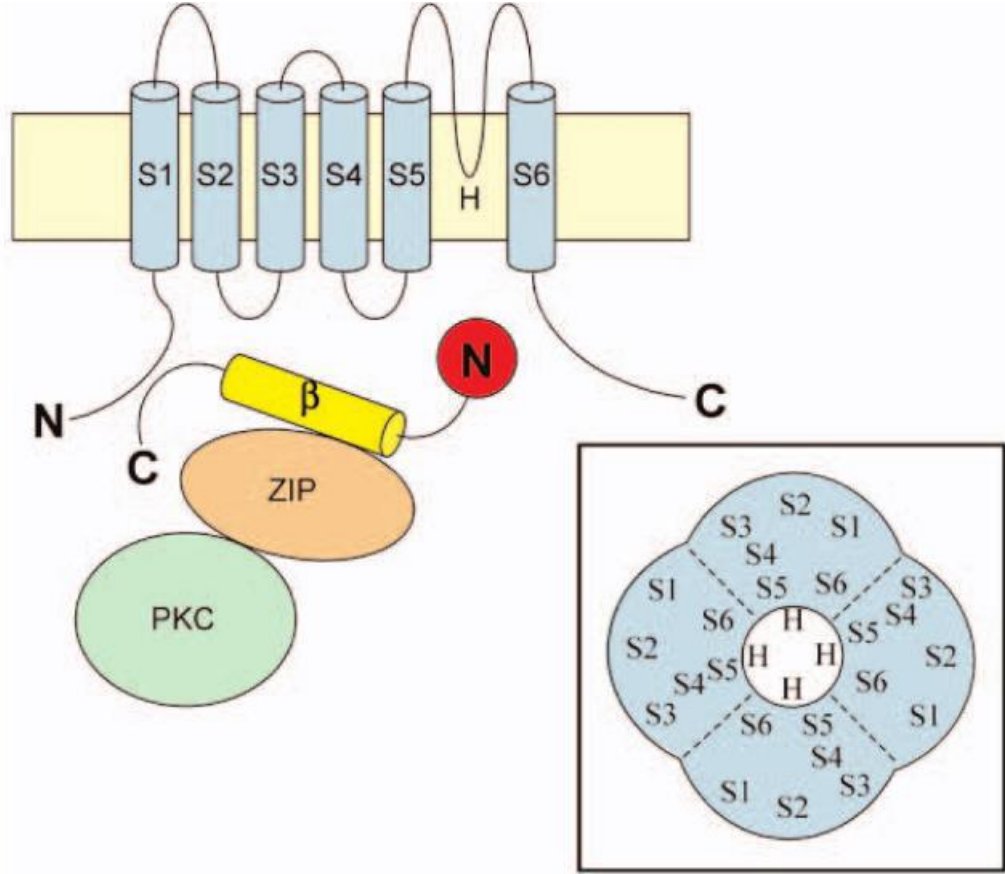
COOH ve H₂N sırasıyla karboksil ve amin gruplarını oluşturmaktadır.

2.5.3.2. Voltaja Duyarlı Potasyum Kanalları

K_V'nin şimdiye kadar 12 alt tipi (K_V1-K_V12) tanımlanmıştır (Nishijima et al., 2018). Bununla birlikte, insan, sıçan, rodent ve köpek gibi farklı türlerin pulmoner arter, mezenterik arter ve aort gibi farklı damar yataklarına göre değişmekle birlikte; esas olarak K_V1.2, K_V1.3, K_V1.5, K_V1.6, K_V2.1, K_V3.1 ve K_V7 izoformları sentezlenmektedir (Cox, & Fromme, 2016; Jepps, Olesen, & Greenwood, 2013). Bu kanalların por yapısını, dörtlü protein yapısında 4 adet α -alt birimi ile düzenleyici sitoplazmik β -alt birimlerinin oluşturduğu bilinmektedir. Hidrofobik amino asitlerden oluşan α -alt birimi 6 transmembranal alandan (S1-S6) oluşur. Bu alanlardan S4, voltaja duyarlılığı oluşturan ana komponentlerden biridir. S5 ve S6 bölgeleri ise porun temel yapısını oluşturur. Ayrıca, α -alt birimi iki uç kısımda karboksil ve amino yapılarına sahiptir (Şekil 13) (Ko et al., 2010; Werner, & Ledoux, 2014).

Fizyolojik olarak hem K_V hem de BK_{Ca} voltaj değişimlerine karşı duyarlıdır. Başka bir ifadeyle, bu kanallar membran depolarizasyonu ile açılır ve membran hiperpolarizasyonu ile kapanırlar. K_V ve K_{Ca} arasındaki temel farklılık Ca^{+2} iyonuna verdikleri yanıttır. Sitoplazmik Ca^{+2} artışı ile K_V inhibe edilirken; BK_{Ca} aktive edilir. Plazma membranı depolarize olduğu zaman K_V açılır ve daha fazla membran depolarizasyonu olması engellenir (Cox, 2005; Stott, Jepps, & Greenwood, 2014). Bazı endojen ve eksojen maddeler bu kanalları açar veya kapatır. Levosimendanın insan umbilikal arterinde K_V ve BK_{Ca} etkinleşmesi ile gevşetici etkisi bildirilmiştir (Yildiz, Nacitarhan, & Seyrek, 2006). Voltaj-bağımlı Na^+ ve Ca^{+2} kanalları yapısal olarak K_V 'ye oldukça benzemektedir. K^+ kanal akımı 4-aminopiridin (1 mM) ile inhibe edilir. Diğer kanallar ise bu konsantrasyonda etkilenmez. K_V 'nin 4-aminopiridin ile bloke edilmesi membran depolarizasyonuna yol açar ve çoğu arterde kasılma oluşturur (Firth et al., 2011; Nelson, & Quayle, 1995; Novakovic et al., 2011).

K_V7 etkinliğinin vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli rol aldığı bilinmektedir. VDKH'nde K_V7 ilk kez fare portal ven düz kas hücrelerinde RT-PCR (*reverse transcription-polymerase chain reaction*) yöntemi ile tanımlanmış ve onun alt birimi olan $K_V7.1$ 'in yüksek mRNA seviyeleri gösterilmiştir (Carr et al., 2016). Daha sonra, K_V7 'nin $K_V7.4$ ve $K_V7.5$ alt tipleri tanımlanmıştır. XE-991 ve linopirdin gibi blokerler, K_V7 'yi bloke ederek damarlarda spontan kasılmaların sıklığını artırır (Haick, & Byron, 2016). Retigabin ise bu kanalları etkinleştirerek spontan damar kasılmalarını azaltır. K_V7 özellikle pulmoner arterlerde vasküler tonusun düzenlenmesinde daha etkindir. Sıçan ve farelerde mezenterik arterlerin, pulmoner arterlerin aksine, K_V7 blokerlerine duyarlı olmadığı bildirilmiştir (Stott et al., 2014).



Şekil 13: Kv'nin şematik yapısı

N ve C terminal bölgeleri hücre içindedir.

S4 voltaja duyarlı bölgedir (Cox, 2005).

2.6. *In-vitro* Kasıcı Ajan Olarak Fenilefrin

Fenilefrin (PHE) ve noradrenalin, izole kan damarlarında endotel-bağımlı ve endotel-bağımsız gevşeme yanıtı çalışmalarında ön gerim uygulamak için en yaygın kullanılan maddelerdir (Faraci, & Sigmund, 1999). Bu ajanlar α_1 -adrenoreseptörlere bağlanarak bazı vasküler yataklarda konsantrasyona bağlı kasıcı yanıtlar oluşturur. Noradrenalin ayrıca, α_2 -adrenoreseptörlere bağlanıp vazodilatasyonu indükleyebilmektedir. α_1 -agonist aracılı vazokonstriksiyon için ana mekanizma, Ca^{+2} 'nin sarkoplazmik retikulumdan salınmasını ve ardından klorür kanallarının aktivasyonu ile depolarizasyonu içerir. Bu sonuç, Ca^{+2} 'nin VDKH membranında bulunan voltaj-kapılı L-tipi Ca^{+2} kanallarından içeri girişini artırır ve sitozolik Ca^{+2} artışı sonrasında kasılma yanıtı oluşur (Mironneau, & Macrez-Lepretre, 1995).

PHE α_1 -adrenerjik reseptörleri doğrudan güçlü bir şekilde etkiler ve vasküler düz kaslarda kasıcı etki yaparak sistolik ve diyastolik kan basınçlarını artırır. Yapılan birçok araştırmada PHE'in sıçan torasik aortunda kasıcı etkisi gösterilmiştir (Cicala et al., 2003; Kayaalp, 2000; Schneider et al., 2002).

Turgut (2007) sıçanlarda yaptığı bir araştırmada, PHE'in preeklampside torasik aort düz kasında konsantrasyona bağlı olarak (10^{-10} - 10^{-4} M) kasılma oluşturduğunu belirtmiştir.

Caudill, Resta, Kanagy, & Walker (1998), torasik aort düz kasında PHE'e verilen endotel-bağımlı kasılma yanıtında N omega-Nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ve çinko protoporfirin birliktede verilmesinin L-NAME'in tek başına uygulanmasından daha fazla artışa neden olduğunu belirlemiştir.

Erkek Wistar sıçanlarda lipopolisakkarit ile indüklenen endotoksemi modelinde, gelişen hipotansiyon ya da PHE'e hipotansif yanıt deksametazon uygulamasıyla düzeltilmiştir (di Villa Bianca et al., 2003). Sıçan torasik aortu halkalarında noradrenalin ile indüklenen kontraksiyon üzerine fentolamin, prazosin ve WB-4101'in etkilerinin incelendiği çalışmada L-NAME ve deksametazonun antagonistik etkileşimlerde buldukları saptanmıştır (Adeagbo, & Trigle, 1993).

Ma, Zhuang, & Xu (1999), L-NAME uygulanan gebe sıçanlarda plazma NO, PGI₂ ve Ang II seviyelerinin azaldığını; plazma endotelin ve TXA₂ seviyelerinin ise arttığını saptamıştır. Aynı çalışmada, preeklampsili sıçanların aort halkalarının PHE'in kontraktıl etkisine karşı daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, L-NAME uygulanan preeklampsili sıçanlar ile uygulanmayan kontrol grubu arasında PHE'in maksimum kasılma yanıtı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. PHE ile α_1 -adrenerjik reseptör etkileşiminin deneysel preeklampsi modelinde değiştiğini belirten araştırmacılar, bu değişikliğin preeklampsili sıçanlarda gözlemlenen hipertansiyon ile ilişkili olduğunu ifade etmiştir.

2.7. *In-vitro* Çözücü Ajan Olarak Dimetil Sülfoksit

Dimetil sülfoksit (DMSO) suda çözünemeyen birçok kimyasal maddenin çözücüsü olarak kullanılan bir ajandır. DMSO (C₂H₆S₀) ilk kez 1866'da

sentezlenmiş; 1963 yılından itibaren ilaç olarak kullanılmaya başlanmıştır. Merkezde sülfür, apekte iki metil grubu, bir oksijen atomu ve bir bağlanmamış elektron çiftinden oluşan piramidal bir yapıya sahiptir. Bu yapısından dolayı çok iyi bir polar çözücü olan DMSO, özellikle kimya ve tıp alanındaki çalışmalarda yaygın olarak kullanılmıştır. DMSO bileşikleri ciltten biyolojik sisteme zararsız olarak taşıdığından ağırlıklı lokal ağrı kesici ilaç olarak kullanılmıştır (Tuna, 2005).

DMSO'nun histolojik ve farmakolojik özelliklerinin birçoğu benzer biyokimyasal ve biyomekanik mekanizmalar gösterir: absorpsiyon/penetrasyon, translokasyon/penetrasyon taşıyıcı aktivite, serbest radikalleri toplayan çöpçü özelliği, enzimlerin inhibisyonu veya aktivasyonu. Bu dört özellik büyük ölçüde DMSO'nun hidrojen bağları kurması sonucu; organik moleküllerle onların organik yapısını tamamen değiştirmeden reaksiyona girebilmesi, su moleküllerine olan yüksek afinitesi, su moleküllerinin kafes şeklindeki yapısını bozması ve biyolojik sistemlerden su moleküllerinin yerine geçebilmesi ile ilgilidir. (Denizli, 2009).

DMSO plazma membranını ve sitoplazmik organelleri intakt deri kadar rahatça geçebilen 78 moleküler ağırlıklı küçük bir moleküldür. Membranları hızlıca geçen DMSO, hidrofilik bağları etkileyerek protein alt birimlerinin birleşmesini önler ve enzimlerin diğer substratlarla bağlantısını keser. Serbest elektron çifti DMSO'nun elektron transferine katılmasını sağlar ve onu hidroksil radikalleri için yüksek spesifitesi olan non-enzimatik bir serbest radikal temizleyicisi yapar. Bunun yanında, DMSO'nun *in-vitro* olarak Na⁺/K⁺-ATPaz (Sodyum/Potasyum-ATPaz) pompasını inhibe ettiği bilinmektedir. DMSO'nun hidroksil radikallerinin yanı sıra süperoksit radikallerine de supresif etkisinin olduğu düşünülmekte ve böylece vasküler endotelial hücrelerde oluşan hasarı önlediği kabul edilmektedir. DMSO'nun antienflamatuvar etkisinin olduğu ve nötrofil fonksiyonlarını inhibe ettiği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. DMSO ayrıca, hücre poliferasyonunu azaltan etkisinden dolayı çeşitli malign hastalıkların tedavisinde de denenmektedir. DMSO analjezik, antienflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, sitoprotektif ve antisklerotik özellikleri de olan çözücü bir moleküldür (C. Küçük, 1999).

2.8. Klasik İzole Organ Banyosu Modeli

İzole organ banyoları fizyoloji ve farmakoloji deneylerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu disiplinler büyük ölçüde laboratuvar hayvanlarında yapılan deneylere dayanır. Küçük boyutları, üreme kolaylıkları ve kısa üreme sürelerinden dolayı deney hayvanı olarak daha çok fare ve sıçan türleri tercih edilmektedir. Sağlıklı hayvanlar, özellikle yeni bir ilacın geçirmesi gereken akut, subakut ve kronik toksisite testleri için kullanılmaktadır. Bu testler teratoloji ve kanserojenite gibi önemli parametreler için gereklidir. Klasik izole organ banyosu modeli, hedef aktivitelerin saptanması ve incelenmesine yardımcı olmak amacıyla cerrahi olarak eksize edilmiş (izole edilmiş) organ veya dokuların kullanılması esasına dayanır (Scheindlin, 2001).

Farmakolojik tekniklerin gelişiminin başlarında, izole edilmiş bir organ veya dokunun, oksijen bulunan ve fizyolojik tuz çözeltisi içeren bir banyoda birkaç saat boyunca işlevsel kalabildiği tespit edilmiştir. Bu yöntemi ilk olarak Henrick Magnus (1802-1870) ince bağırsak şeritlerinde; sonrasında Jean-François Heymans (1904) memeli kalbinde ve Claude Bernard ise izole edilmiş sinir-kas preparatlarında denemiştir. Bu tekniğin gücü sadeliği ve çok yönlülüğüdür. Bu yöntemle, bir antagonistin varlığında veya yokluğunda artan agonist konsantrasyonlarına bağlı olarak gelişen yanıtların kaydedilmesi sağlanır. Bu sayede, her bir etken maddenin fonksiyonel etkileri ve bunların bağlandığı reseptörlerin fizyolojik özellikleri hakkında önemli bilgiler elde edilebilir (Scheindlin, 2001).

Klasik izole organ banyosu modelinde kullanılan çok yönlü ve kolay erişilebilir izole doku tiplerinden biri izole edilen kan damarlarıdır. Arterler ve venler kasılmaya (serotonin reseptörleri, α_1 -adrenerjik reseptörler vb.), gevşemeye (β -adrenerjik reseptörler vb.) ve endotel fonksiyonlarına (asetilkolin reseptörleri vb.) aracılık eden geniş bir reseptör çeşitliliği içerir. Kan damarlarında mekanik kasılma ve gevşeme düz kas tarafından kontrol edilirken; mediyatörler endotel hücrelerinden salınmaktadır (Kenakin, 2001).

Kan damarları kan basıncının ve kan akımının regülasyonunda çok önemli bir role sahiptir. Bu düzenleyici işlevlerin sağlıklı veya patolojik durumlardaki

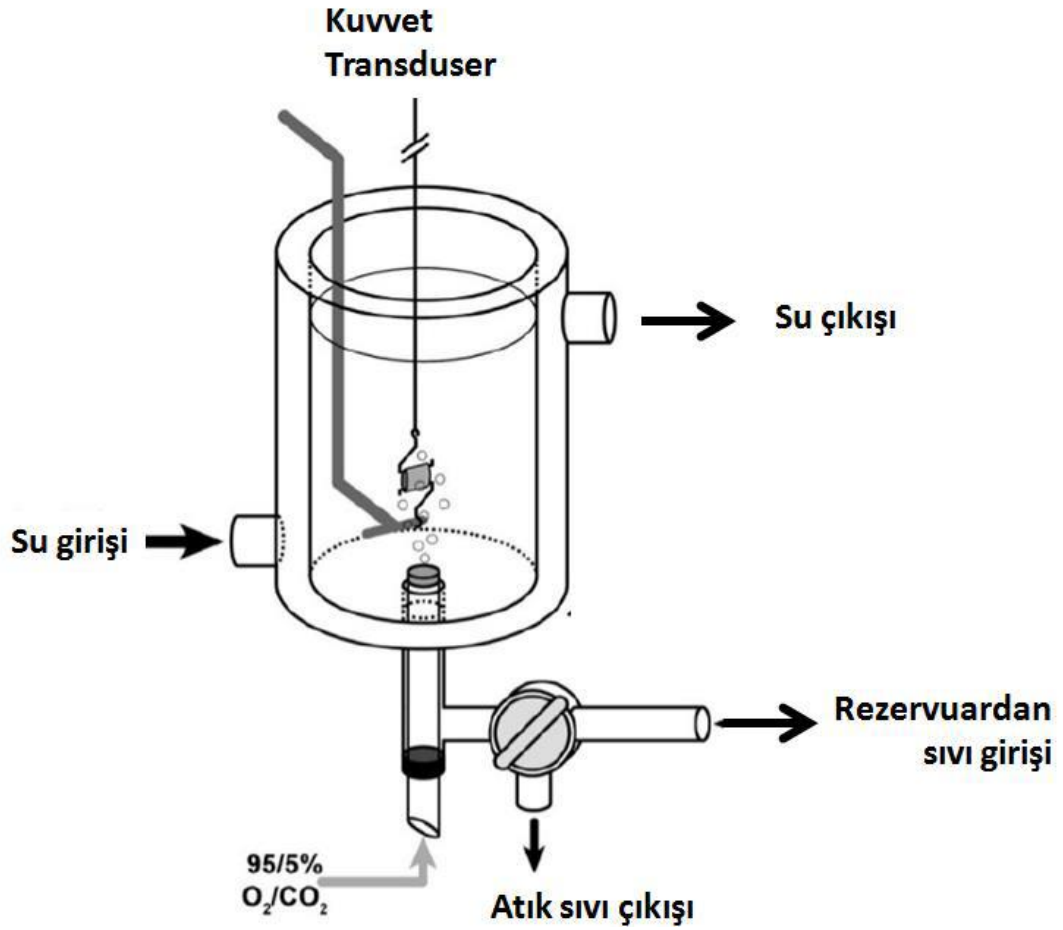
mekanizmalarını anlayabilmek için, damarların *in-vivo* davranışları ve birbirleriyle olan etkileşimleri iyi bilinmelidir. Bununla birlikte, *in-vivo* koşullar altında damarlar arasında komplike bir etkileşim bulunmaktadır. Bu komplike etkileşimin oluşmasında nörotransmitterler, çevre dokulardan veya kan yoluyla gelen hormonlar, endotel, damarların proksimal ve distal yüzeyleri arasındaki davranışsal değişiklik ve *shear stress* gibi mekanik faktörler etkilidir. Bu sistemin karmaşıklığı deneysel bulguların mekanik terimlerle yorumlanabilmesini büyük ölçüde sınırlandırır. Bu nedenle, birçok karmaşık faktörün kontrol edilebildiği *in-vitro* yöntemler tanımlanmıştır (Schubert, 2005).

İlk izole organ banyosu deneyleri, büyük kan damarlarının kullanıldığı çalışmalardır. Bununla birlikte, son zamanlardaki teknik gelişmeler sonucunda küçük arterler, arteriyoller ve daha küçük damarlar üzerinde de deneyler yapılabilmektedir. İzole organ banyosu modelinde, yaklaşık 20 µm-birkaç milimetre arasında değişen çaplara sahip ve yaklaşık 0,1-10 mm uzunluğundaki damar segmentleri kullanılmaktadır. Bu damar segmentleri tunika intimadaki endotel hücrelerini, tunika mediadaki düz kas hücrelerini ve tunika adventisyadaki sinir uçları ile diğer yapıları (yağ hücreleri, fibroblastlar vb.) içerir (Schubert, 2005).

Damar preparatları izole organ banyosu modelinin kullanıldığı ilk zamanlarda spiral şerit şeklinde hazırlanmıştır. Ancak, bu prosedür düz kas ve endotel hücrelerinde hasarlanmalara neden olarak vasküler yapının bozulmasıyla sonuçlanabildiği için, daha sonra silindirik damar segmentlerinin kullanımı tercih edilmiştir.

2.8.1. İzole Damar Halkaları

İzole damar halkalarının organ banyosuna asılması klasik ve eski bir yaklaşımdır. Damar halkasından izometrik kasılma yanıtları alabilmek için lümenin iki karşıt tarafına kanca geçirilir. Kancalardan biri organ banyosuna, diğeri ise izometrik dönüştürücüye sabitlenerek ölçüm alınır (Şekil 14) (Kenakin, 2001).



Şekil 14: İzole damar halkalarının organ banyosuna asılması (Jespersen, Tykocki, Watts, & Cobbett, 2015)

Kancaların veya askı tellerinin çapları, aşırı gerilme durumunda damarın zarar görmemesi için kullanılan damarın çapına göre ayarlanmalıdır. Bu sistemde askı aparatı olarak yaklaşık 14 µm çapındaki küçük teller kullanıldığı bildirilmiştir (Bukoski, Shearin, Jackson, & Pamarthi, 2001). Buna ek olarak, tungsten teli kullanılırsa eskiden tungsten telinin kendiliğinden yüzey oksidasyonuna uğrayabileceği ve bunun da damar kasılma-gevşeme yanıtları üzerinde hatalara neden olabileceği bildirilmektedir. Bu nedenle, izole organ banyosu deneylerinde altın veya tungsten içermeyen paslanmaz çelik tel kullanılması gerekmektedir (Bukoski et al., 2001).

Damar halkalarının asılması ile deneyin başlangıcında *in-vivo* fizyolojik koşulları taklit edebilmek için damarların bazal gerimi (*preload*) ayarlanmalıdır. Bu prosedür önemlidir çünkü damarların kasılma-gevşeme yanıtlarının başlangıçtaki gerim miktarına bağlı olarak değişebildiği vurgulanmaktadır. Bu bağlamda, damarın

noradrenaline duyarlılığının başlangıç gerimi ile arttığı belirtilmektedir (Nilsson, & Sjoblom, 1985). Ayrıca, asetilkolin ile indüklenmiş hiperpolarizasyonun, önceden gerim uygulanmış preparatlarda gerim uygulanmamış preparatlara oranla daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu farkın, önceden gerim uygulanmış preparattaki ek mekanizmaların (NO, PGI₂ vb.) vazodilatasyona katkı sağlaması sonucunda oluştuğu bildirilmiştir (Nilsson, & Sjoblom, 1985). Başlangıç gerimini ayarlama prosedürü “normalizasyon” olarak adlandırılır ve damarın *in-vivo* basıncına karşılık gelen bir başlangıç gerimi seçilir (Schubert, 2005).

Normalizasyon prosedüründen sonra dokunun çalışıp çalışmadığı kontrol edilir. Bu işlem için genel olarak yüksek konsantrasyonda bir agonist [bazen yüksek konsantrasyonlarda (120 mM) bir potasyum çözeltisi ilavesiyle birlikte] 2-3 kez uygulanır. Bu prosedür, damarın izole edilmesi ve organ banyosuna yerleştirilmesi işlemlerinin ardından stabil kasılma yanıtlarını gözlemleyebilmek için gereklidir. Başlangıçta agonistin bir kez yüksek konsantrasyonda uygulanması, dokunun çalışabilirliği hakkında kabaca bilgi verir. Buna ek olarak, damarın canlılığı doyma konsantrasyonundan yaklaşık 100 kat daha küçük bir agonist konsantrasyonu ile test edilir. Kasılma yanıtları alınması üzerine, asetilkolin gibi endoteli aktive edebilen bir agonist endotelin canlılığını test etmek için organ banyosuna eklenebilir. Bu sistemde, vasküler düz kas hücrelerinin aktivasyon seviyelerini gösteren damar halkalarının kasılma-gevşeme yanıtları, kuvvetteki değişiklikler olarak temsil edilmektedir (Schubert, 2005).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada, Bursa Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (BUÜ DEHYUAM) temin edilen 10-12 haftalık 84 adet erkek Wistar Albino türü sıçan kullanılmıştır.

3.2. İzole Organ Banyosu Deneyleri

3.2.1. Aort Halkalarının Hazırlanması ve Organ Banyosuna Asılması

Deneylerde kullanılan hayvanlar herhangi bir ön muameleye tabi tutulmadan ve herhangi bir stres faktörüne maruz kalmamalarına dikkat edilerek anestezi yapılmaksızın dekapite edilmiştir. Hayvanların göğüs boşluğu hızlı bir şekilde açılarak torasik aort dikkatlice çıkarılmış ve normal Krebs solüsyonu (NaCl: 119 mM, KCl: 4,7 mM, MgSO₄: 1,5 mM, KH₂PO₄: 1,2 mM, CaCl₂: 2,5 mM, NaHCO₃: 25 mM, Glukoz: 11 mM) içine bırakılmıştır. Torasik aorta hasar vermemeye özen gösterilerek çevresindeki bağ dokular temizlenmiştir. Daha sonra, bu göğüs arterinden 3-4 mm'lik bir damar halkası elde edilmiştir. Bu halkalar Fizyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında içinde 20 ml normal Krebs solüsyonu bulunan dört gözlü organ banyosunun (Commat Ltd., Ankara, Türkiye) her gözüne bir halka gelecek şekilde çelik teller asılarak gergin bir ip aracılığıyla izometrik kuvvet transdüserine (SS12LA force transducer, BIOPAC Systems, Inc. Aero Camino, USA) mümkün olan en kısa sürede bağlanmıştır (Resim 1-3). Organ banyosunun sıcaklığı içerisinde distile su bulunan bir termosirkülatör aracılığı ile 37 °C ($\pm 0,1$ °C)'de sabit tutulmuştur. Solüsyon % 95 O₂ - % 5 CO₂ gaz karışımı ile deney boyunca gazlandırılarak pH'si 7.4 olacak şekilde ayarlanmıştır. Dokuların içinde bulunduğu banyolardaki Krebs solüsyonu alışma periyodu sırasında her 15 dakikada bir taze Krebs solüsyonu ile değiştirilmiştir. Sonrasında etken ve inhibitor

madde uygulamalarına geçilmiştir. Etken ve bloker/inhibitör madde uygulamaları ayarlanabilir otomatik pipet kullanılarak, hassas bir şekilde, Krebs çözeltisi içerisine yapılmıştır. İletim tipi büyük bir arter olan ve yaklaşık çapı 2-2,5 mm arasında olan torasik aort halkalarının izometrik kasılma yanıtları klasik organ banyosu kullanılarak kaydedilmiştir (Jespersen et al., 2015).



Resim 1: İzole organ banyosu kayıt ve analiz sistemi

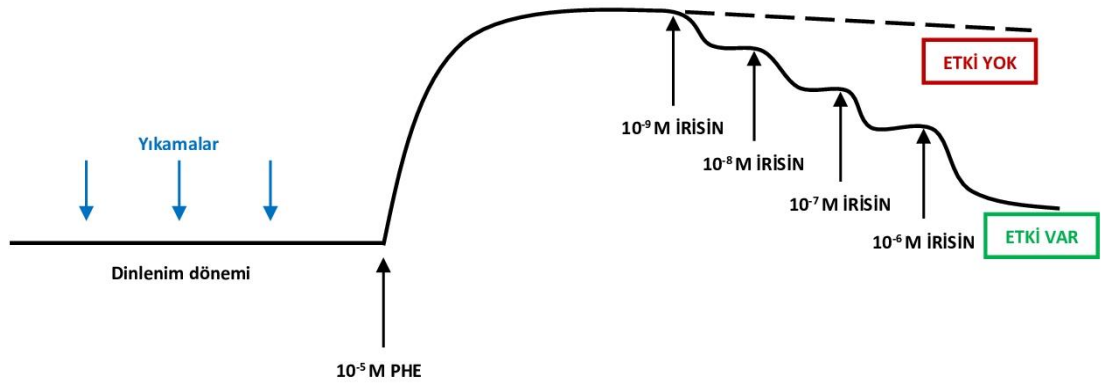


Resim 2: Çevre dokulardan temizlenerek halka şeklinde hazırlanmış sıçan torasik aortu halkaları

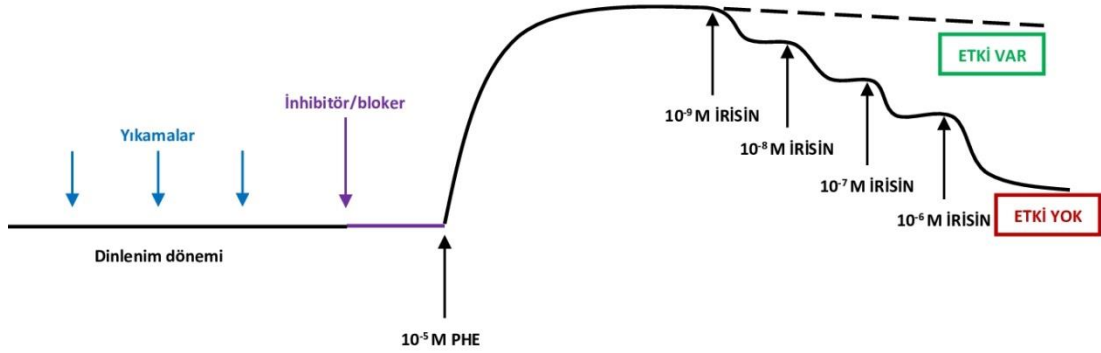


Resim 3: Sıçan torasik aortu halkası (3-4 mm) organ banyosuna asılmış şekilde

Bu çalışmada, tüm deney gruplarında irisinin 10^{-9} - 10^{-6} M aralığındaki konsantrasyonları (10^{-7} M'lık plazma konsantrasyonu ile alt ve üst katlarını içerecek şekilde) kullanılmıştır. Grup içi kontrol kayıtları etken madde uygulaması öncesinde (10^{-5} M PHE ile oluşturulan kasılma yanıtı platoya ulaştığında) alınan kayıtlardır. Yolak araştırması amacı ile kullanılan bloker ve inhibitörlerin inkübasyonunu takiben uygulanan irisin konsantrasyonlarına bağlı gelişen yanıtlar, “kontrol” grubu (1. Grup) ile karşılaştırılarak gevşeme genlikleri arasındaki farklar hesaplanmıştır. Ayrıca, çözücü olarak kullanılmış olan DMSO için “*vehicle*” kontrol grubu oluşturulmuştur (Şekil 15, Şekil 16).



Şekil 15: İrisinin sıçan torasik aortu halkalarındaki gevşetici etkilerinin araştırıldığı deneylerin genel protokol şeması



Şekil 16: İrisinin sıçan torasik aortu halkalarında oluşturduğu gevşeme yanıtlarının olası etki mekanizmalarının araştırıldığı deneylerin genel protokol şeması

3.2.2. Deney Grupları

1. Grup:

İrisinin PHE ile kasılan damardaki gerime etkisi “kontrol” amaçlı araştırılmıştır.

Aort kesitleri Krebs solüsyonu içeren organ banyosu haznesine yerleştirilmiştir. 2 g ön gerim uygulanan aort halkaları gerime uyum sağlayana kadar 60 dk takip edilmiştir.

Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları 60 dk’lık alışma periyodu sonrası 10⁻⁵ M PHE ile kasılmıştır. Kasılma yanıtı platoya ulaştığında, organ banyosu

haznesine 5 dk aralıklarla 10^{-9} M'den başlayarak 10^{-6} M'ye kadar artan konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) irisin kümülatif olarak uygulanmıştır. 10^{-5} M fenilefrine verilen kasılma yanıtı % 100 kabul edilmiş ve irisin dozlarındaki gevşemeler % olarak kayıt altına alınarak konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları elde edilmiştir.

Böylece, irisinin torasik aort düz kas dokusunda PHE aracılı kontraksiyona etkisi tespit edilmiştir.

2. Grup:

PKC inhibitörü bisindolilmaleimid I'in (BIM I), irisinin PHE ile kasılan damardaki gerime etkisindeki rolü araştırılmıştır.

Aort kesitleri Krebs solüsyonu içeren organ banyosu haznesine yerleştirilmiştir. 2 g ön gerim uygulanan aort halkaları gerime uyum sağlayana kadar 60 dk takip edilmiştir.

60 dk'lık alışma periyodu sonrası organ banyosu haznesine 150 nM BIM I ilave edilmiştir. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları BIM I varlığında 20 dk'lık inkübasyondan sonra 10^{-5} M PHE ile kasılmıştır. Kasılma yanıtı platoya ulaştığında, organ banyosu haznesine 5 dk aralıklarla 10^{-9} M'den başlayarak 10^{-6} M'ye kadar artan konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) irisin kümülatif olarak uygulanmıştır. BIM I varlığında 10^{-5} M fenilefrine verilen kasılma yanıtı % 100 kabul edilmiş ve irisin dozlarındaki gevşemeler % olarak kayıt altına alınarak konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları elde edilmiştir.

Böylece, irisinin torasik aort düz kas dokusundaki PHE aracılı kontraksiyona etkisinde PKC'nin rolü tespit edilmiştir.

3. Grup:

MEK1/2 inhibitörü U0126'nın, irisinin PHE ile kasılan damardaki gerime etkisindeki rolü araştırılmıştır.

Aort kesitleri Krebs solüsyonu içeren organ banyosu haznesine yerleştirilmiştir. 2 g ön gerim uygulanan aort halkaları gerime uyum sağlayana kadar 60 dk takip edilmiştir.

60 dk'lık alışma periyodu sonrası organ banyosu haznesine 1,5 µM U0126 ilave edilmiştir. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları U0126 varlığında 20 dk'lık inkübasyondan sonra 10^{-5} M PHE ile kasılmıştır. Kasılma yanıtı platoya ulaştığında, organ banyosu haznesine 5 dk aralıklarla 10^{-9} M'den başlayarak 10^{-6} M'ye kadar artan konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) irisin kümülatif olarak uygulanmıştır. U0126 varlığında 10^{-5} M fenilefrine verilen kasılma yanıtı % 100 kabul edilmiş ve irisin dozlarındaki gevşemeler % olarak kayıt altına alınarak konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları elde edilmiştir.

Böylece, irisinin torasik aort düz kas dokusundaki PHE aracılı kontraksiyona etkisinde MEK1/2 yolağının rolü tespit edilmiştir.

4. Grup:

K_v blokeri XE-991'in, irisinin PHE ile kasılan damardaki gerime etkisindeki rolü araştırılmıştır.

Aort kesitleri Krebs solüsyonu içeren organ banyosu haznesine yerleştirilmiştir. 2 g ön gerim uygulanan aort halkaları gerime uyum sağlayana kadar 60 dk takip edilmiştir.

60 dk'lık alışma periyodu sonrası organ banyosu haznesine 30 µM XE-991 ilave edilmiştir. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları U0126 varlığında 20 dk'lık inkübasyondan sonra 10^{-5} M PHE ile kasılmıştır. Kasılma yanıtı platoya ulaştığında, organ banyosu haznesine 5 dk aralıklarla 10^{-9} M'den başlayarak 10^{-6} M'ye kadar artan konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) irisin kümülatif olarak uygulanmıştır. XE-991 varlığında 10^{-5} M fenilefrine verilen kasılma yanıtı % 100 kabul edilmiş ve irisin dozlarındaki gevşemeler % olarak kayıt altına alınarak konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları elde edilmiştir.

Böylece, irisinin torasik aort düz kas dokusundaki PHE aracılı kontraksiyona etkisinde K_v'nin rolü tespit edilmiştir.

5. Grup:

SK_{Ca} blokleri apaminin, irisinin PHE ile kasılan damardaki gerime etkisindeki rolü araştırılmıştır.

Aort kesitleri Krebs solüsyonu içeren organ banyosu haznesine yerleştirilmiştir. 2 g ön gerim uygulanan aort halkaları gerime uyum sağlayana kadar 60 dk takip edilmiştir.

60 dk'lık alışma periyodu sonrası organ banyosu haznesine 100 nM apamin ilave edilmiştir. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları apamin varlığında 30 dk'lık inkübasyondan sonra 10⁻⁵ M PHE ile kasılmıştır. Kasılma yanıtı platoya ulaştığında, organ banyosu haznesine 5 dk aralıklarla 10⁻⁹ M'den başlayarak 10⁻⁶ M'ye kadar artan konsantrasyonlarda (10⁻⁹-10⁻⁶ M) irisin kümülatif olarak uygulanmıştır. Apamin varlığında 10⁻⁵ M fenilefrine verilen kasılma yanıtı % 100 kabul edilmiş ve irisin dozlarındaki gevşemeler % olarak kayıt altına alınarak konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları elde edilmiştir.

Böylece, irisinin torasik aort düz kas dokusundaki PHE aracılı kontraksiyona etkisinde SK_{Ca}'nın rolü tespit edilmiştir.

6. Grup:

BK_{Ca} blokleri tetraetil amonyumun (TEA), irisinin PHE ile kasılan damardaki gerime etkisindeki rolü araştırılmıştır.

Aort kesitleri Krebs solüsyonu içeren organ banyosu haznesine yerleştirilmiştir. 2 g ön gerim uygulanan aort halkaları gerime uyum sağlayana kadar 60 dk takip edilmiştir.

60 dk'lık alışma periyodu sonrası organ banyosu haznesine 2 mM TEA ilave edilmiştir. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları TEA varlığında 30 dk'lık inkübasyondan sonra 10⁻⁵ M PHE ile kasılmıştır. Kasılma yanıtı platoya ulaştığında, organ banyosu haznesine 5 dk aralıklarla 10⁻⁹ M'den başlayarak 10⁻⁶ M'ye kadar artan konsantrasyonlarda (10⁻⁹-10⁻⁶ M) irisin kümülatif olarak uygulanmıştır. TEA varlığında 10⁻⁵ M fenilefrine verilen kasılma yanıtı % 100 kabul edilmiş ve irisin

dozlarındaki gevşemeler % olarak kayıt altına alınarak konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları elde edilmiştir.

Böylece, irisinin torasik aort düz kas dokusundaki PHE aracılı kontraksiyona etkisinde BK_{Ca} 'nın rolü tespit edilmiştir.

7. Grup:

BIM I, U0126 ve XE-991 çözücüsü DMSO'nun, PHE ile kasılan damardaki gerime etkisi "*vehicle*" kontrol amaçlı araştırılmıştır.

Aort kesitleri Krebs solüsyonu içeren organ banyosu haznesine yerleştirilmiştir. 2 g ön gerim uygulanan aort halkaları gerime uyum sağlayana kadar 60 dk takip edilmiştir.

60 dk'lık alışma periyodu sonrası organ banyosu haznesine çözücü konsantrasyonda dimetil sülfoksit ilave edilmiştir. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları DMSO varlığında 10 dk'lık inkübasyondan sonra 10^{-5} M PHE ile kasılmıştır. Kasılma yanıtı platoya ulaştığında, organ banyosu haznesine 5 dk aralıklarla 10^{-9} M'den başlayarak 10^{-6} M'ye kadar artan konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) irisin kümülatif olarak uygulanmıştır. DMSO varlığında 10^{-5} M fenilefrine verilen kasılma yanıtı % 100 kabul edilmiş ve irisin dozlarındaki gevşemeler % olarak kayıt altına alınarak konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları elde edilmiştir.

Böylece, irisinin torasik aort düz kas dokusundaki PHE aracılı kontraksiyona etkisinde BIM I, U0126 ve XE-991 çözücüsü olarak kullanılan DMSO'nun rolü tespit edilmiştir.

Yukarıda belirtilen her bir grup için 8 aort preparatı kullanılmıştır (n=8).

Kasılma ve gevşeme yanıtları MP36 kayıt sisteminde (BIOPAC Systems, Inc. Aero Camino, USA) kuvvet transdüseri aracılığı ile izometrik olarak ölçülmüştür. Elde edilen kayıtlar Biopac Student Lab 3.7.7 programı (BIOPAC Systems, Inc. Aero Camino, USA) ile bilgisayar ortamında değerlendirilmiştir.

3.3. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde kullanılmış olan irisin, PHE, BIM I, U0126, XE-991, apamin, TEA, DMSO ve Krebs solüsyonu hazırlamak için gerekli kimyasal maddeler Sigma Aldrich'ten (St Louis, MO, USA) temin edilmiştir. İrisin, PHE, apamin ve TEA distile suda; BIM I, U0126 ve XE-991 ise DMSO içerisinde özölmüştür.

3.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için bilgisayar ortamında SPSS 23.0 programı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılmıştır. Tüm veriler ortalama \pm SS (standart sapma) olarak ifade edilmiştir. Bağımsız iki grup arasındaki istatistiksel anlamlılık, bağımsız örneklem t-testi (*independent sample t test*) ile analiz edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için tek yönlü varyans analizi (*one-way ANOVA*) testi kullanılmıştır. Gruplar arası farklılıkların saptanması amacıyla Dunnett's T3 *post hoc* testi kullanılmıştır. p değeri 0,05'in altında bulunan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

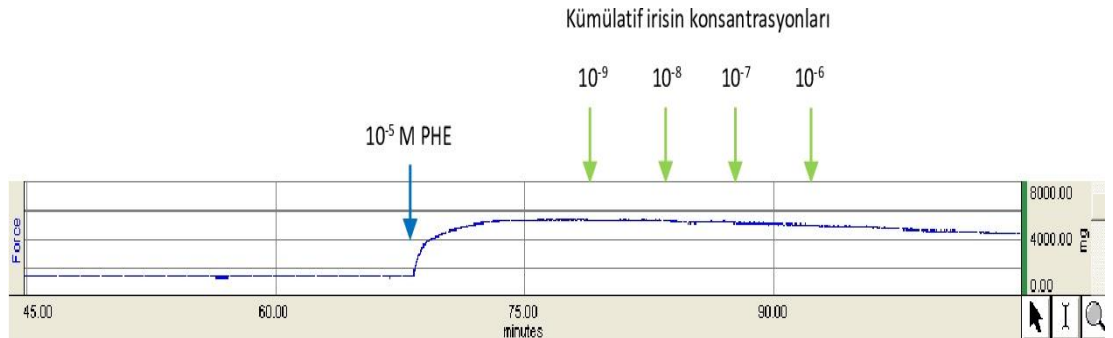
3.5. Etik

Bu alışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (BUÜ HADYEK) 03/04/2019 tarihli ve 2019-04/10 No.lu kararı ile onaylanmıştır.

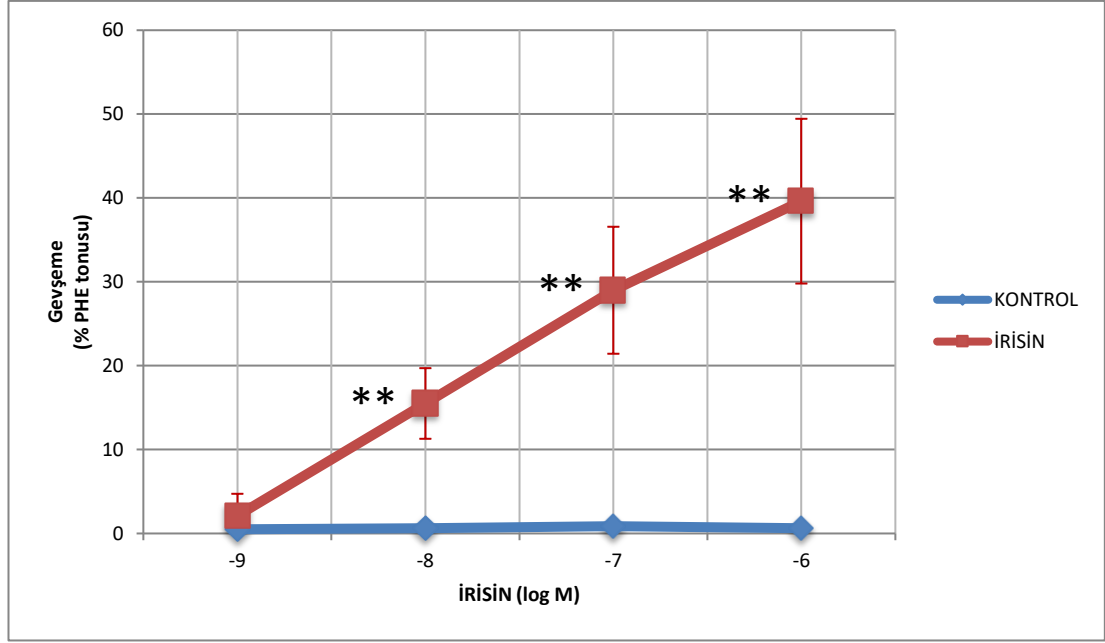
4. BULGULAR

Ön deneylerde ilk olarak, vasküler düz kas kasılma yanıtı oluşturmak üzere izole organ banyosu haznelerine kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-4} M) PHE verilmiş ve submaksimal kasılma yanıtı 10^{-5} M PHE'ye karşı alınmıştır. Daha sonra tüm deneylerde bu konsantrasyonda (10^{-5} M) tek doz olarak verilen PHE ile ön kasılmalar oluşturulmuştur. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-5} M) uygulanan PHE ile sıçan torasik aortu halkalarında oldukça stabil ve sürekli kasılma yanıtları oluşmuştur. Ön deneylerde ayrıca, çalışmada kullanılan konsantrasyonlarda irisinin ve bloker/inhibitör maddelerin sıçan torasik aortu halkalarında bazal tonus üzerinde anlamlı etkilerinin olmadığı saptanmıştır.

PHE (10^{-5} M) ile önceden kasılan endoteli sağlam sıçan torasik aortu halkalarında kümülatif olarak uygulanan irisin (10^{-9} - 10^{-6} M) konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur. İrisinin gevşetici etkisi 10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-6} M'lık konsantrasyonlarda kontrol grubuna (distile su uygulanmış sıçan torasik aortu halkalarına) göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur (Kontrol grubu ile kıyaslandığında 10^{-9} M için p: 0,840, p>0,05; 10^{-8} M için p: 0,000, p<0,001; 10^{-7} M için p: 0,000, p<0,001; 10^{-6} M için p: 0,000, p<0,001) (Grafik 1).



Şekil 17: Submaksimal konsantrasyonda (10^{-5} M) PHE ile kasılmış sıçan torasik aortu halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan irisinin oluşturduğu gevşeme yanıtlarını gösteren özgün bir trase



Grafik 1: Submaksimal konsantrasyonda (10^{-5} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam sıçan torasik aortu halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan irisinin oluşturduğu gevşeme yanıtları (n=8)

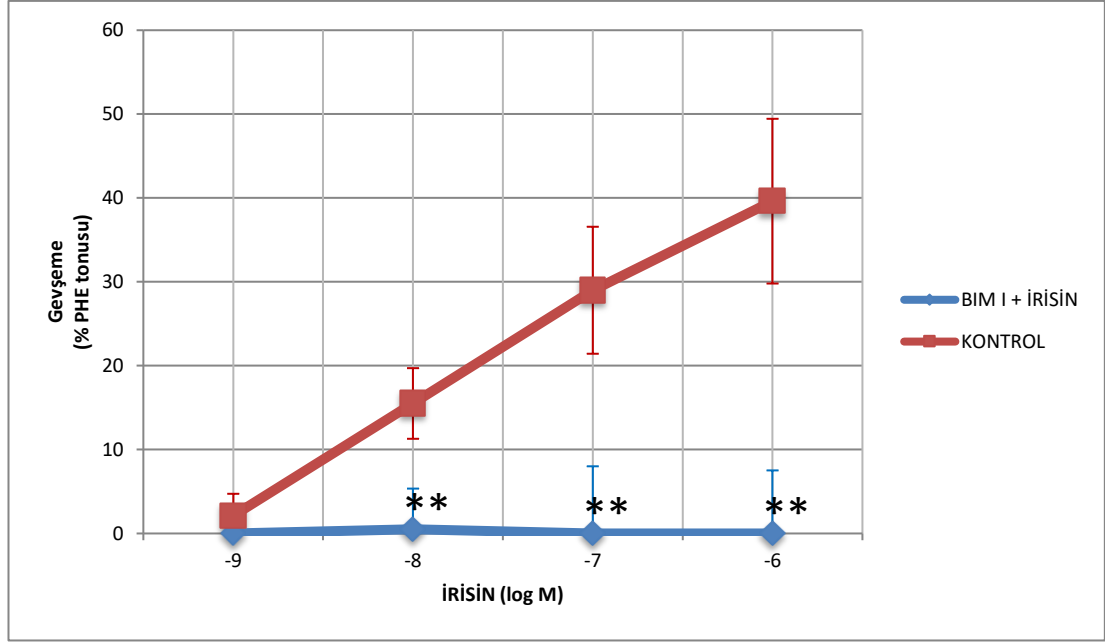
** : $p < 0,001$ (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Veriler ortalama \pm SS olarak ifade edilmiştir.

Kontrol gruplarına distile su uygulanmıştır.

Dokuların 20 dk süreyle PKC inhibitörü BIM I (150 nM) ile inkübasyonu irisine gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmuştur. BIM I (150 nM) inkübasyonu kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan irisinin 10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-6} M'lık konsantrasyonları ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ile sonuçlanmıştır (BIM I varlığında ve yokluğunda 10^{-8} M için p: 0,000, $p < 0,001$; 10^{-7} M için p: 0,000, $p < 0,001$; 10^{-6} M için p: 0,000, $p < 0,001$). PKC inhibitörü BIM I (150 nM) irisine gevşeme yanıtlarını neredeyse tamamen inhibe etmiştir (Grafik 2).



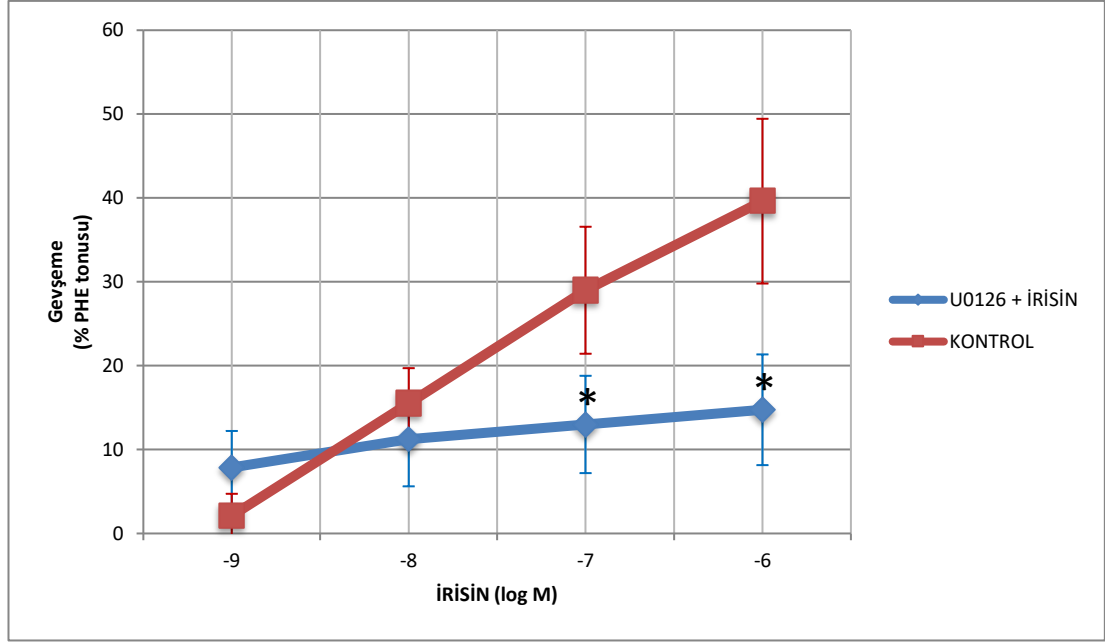
Grafik 2: Submaksimal konsantrasyonda (10^{-5} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam sıçan torasik aortu halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan irisinin oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde PKC inhibitörü BIM I inkübasyonunun (150 nM, 20 dk) etkisi (n=8)

** : $p < 0,001$ (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Veriler ortalama \pm SS olarak ifade edilmiştir.

Dokuların 20 dk süreyle MEK1/2 inhibitörü U0126 ($1,5$ μ M) ile inkübasyonu irisine gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmuştur. U0126 ($1,5$ μ M) inkübasyonu kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan irisinin 10^{-8} M'luk konsantrasyonu ile oluşan gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmazken; 10^{-7} ve 10^{-6} M'luk konsantrasyonları ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ile sonuçlanmıştır (U0126 varlığında ve yokluğunda 10^{-8} M için p : $0,875$, $p > 0,05$; 10^{-7} M için p : $0,010$, $p < 0,05$; 10^{-6} M için p : $0,002$, $p < 0,05$). MEK1/2 inhibitörü U0126 ($1,5$ μ M) irisine gevşeme yanıtlarını önemli düzeyde inhibe etmiştir (Grafik 3).



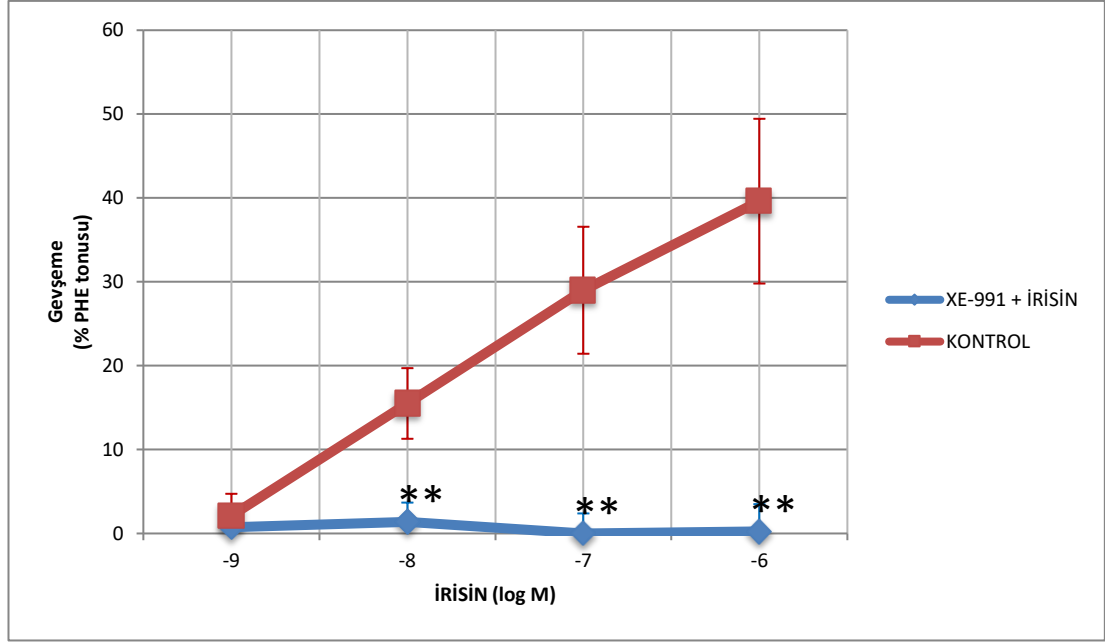
Grafik 3: Submaksimal konsantrasyonda (10^{-5} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam sıçan torasik aortu halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan irisinin oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde MEK1/2 inhibitörü U0126 inkübasyonunun ($1,5 \mu\text{M}$, 20 dk) etkisi (n=8)

*: $p < 0,05$ (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Veriler ortalama \pm SS olarak ifade edilmiştir.

Dokuların 20 dk süreyle K_v blokleri XE-991 ($30 \mu\text{M}$) ile inkübasyonu irisine gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmuştur. XE-991 ($30 \mu\text{M}$) inkübasyonu kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan irisinin 10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-6} M'lık konsantrasyonları ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ile sonuçlanmıştır (XE-991 varlığında ve yokluğunda 10^{-8} M için $p: 0,000$, $p < 0,001$; 10^{-7} M için $p: 0,000$, $p < 0,001$; 10^{-6} M için $p: 0,000$, $p < 0,001$). K_v blokleri XE-991 ($30 \mu\text{M}$) irisine gevşeme yanıtlarını neredeyse tamamen bloke etmiştir (Grafik 4).



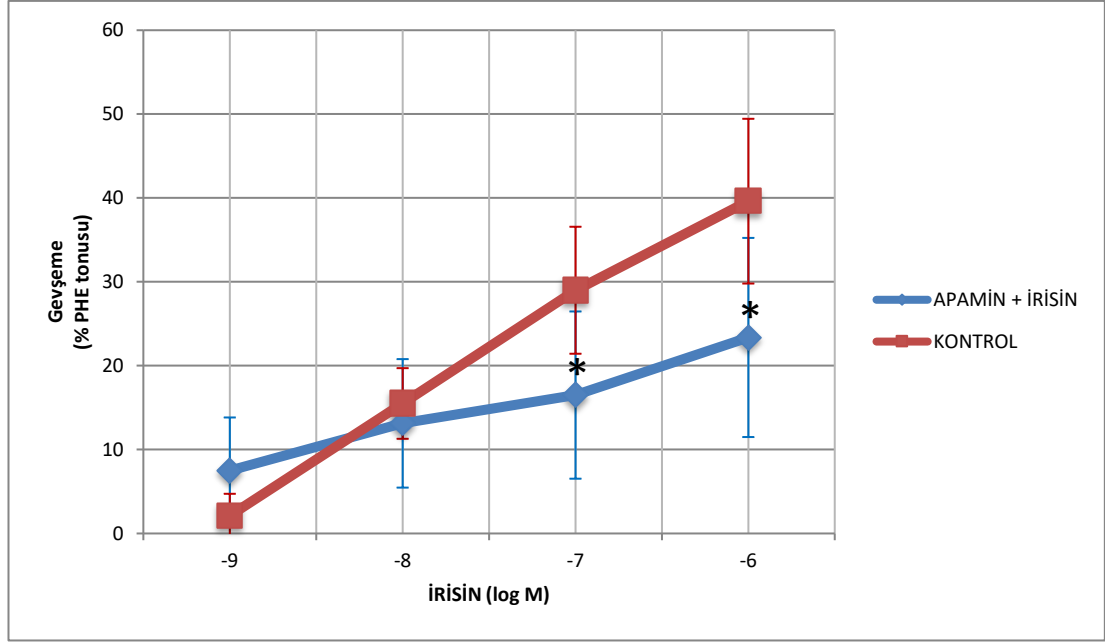
Grafik 4: Submaksimal konsantrasyonda (10^{-5} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam sıçan torasik aortu halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan irisinin oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde K_V blokleri XE-991 inkübasyonunun ($30 \mu\text{M}$, 20 dk) etkisi ($n=8$)

** $p < 0,001$ (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Veriler ortalama \pm SS olarak ifade edilmiştir.

Dokuların 30 dk süreyle SK_{Ca} blokleri apamin (100 nM) ile inkübasyonu irisine gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmuştur. Apamin (100 nM) inkübasyonu kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan irisinin 10^{-8} M'luk konsantrasyonu ile oluşan gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmazken; 10^{-7} ve 10^{-6} M'luk konsantrasyonları ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ile sonuçlanmıştır (Apamin varlığında ve yokluğunda 10^{-8} M için $p: 0,459$, $p > 0,05$; 10^{-7} M için $p: 0,014$, $p < 0,05$; 10^{-6} M için $p: 0,010$, $p < 0,05$). SK_{Ca} blokleri apamin (100 nM) irisine gevşeme yanıtlarını önemli düzeyde bloke etmiştir (Grafik 5).



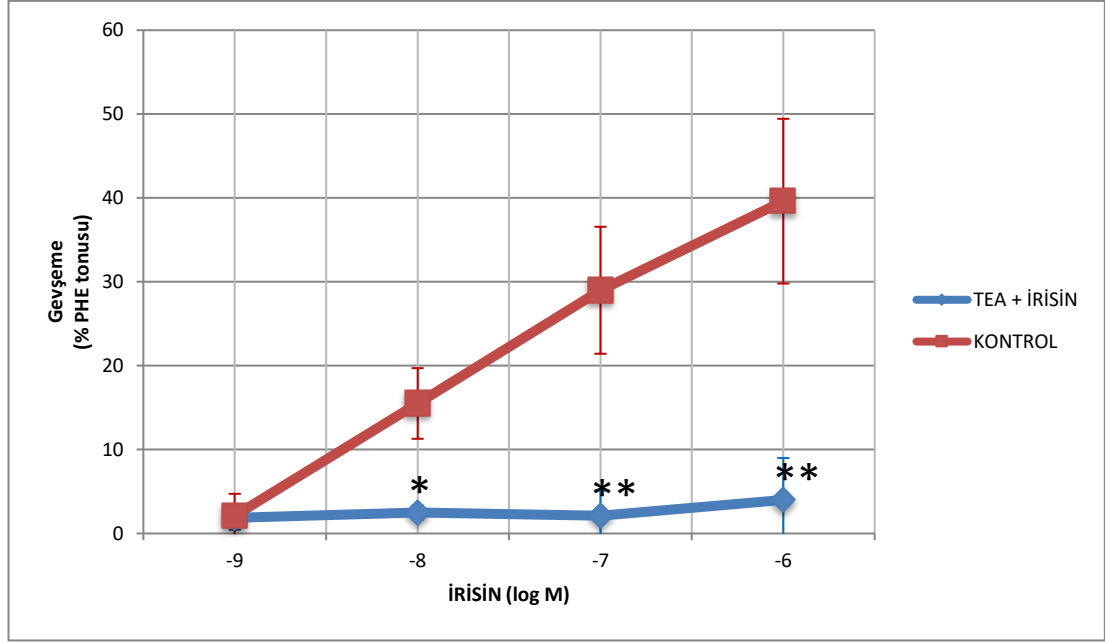
Grafik 5: Submaksimal konsantrasyonda (10^{-5} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam sıçan torasik aortu halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan irisinin oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde SK_{Ca} blokörü apamin inkübasyonunun (100 nM, 30 dk) etkisi (n=8)

*: $p < 0,05$ (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Veriler ortalama \pm SS olarak ifade edilmiştir.

Dokuların 30 dk süreyle BK_{Ca} blokörü TEA (2 mM) ile inkübasyonu irisine gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmuştur. TEA (2 mM) inkübasyonu kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan irisinin 10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-6} M'lık konsantrasyonları ile oluşan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ile sonuçlanmıştır (TEA varlığında ve yokluğunda 10^{-8} M için $p: 0,001$, $p < 0,05$; 10^{-7} M için $p: 0,000$, $p < 0,001$; 10^{-6} M için $p: 0,000$, $p < 0,001$). BK_{Ca} blokörü TEA (2 mM) irisine gevşeme yanıtlarını önemli düzeyde bloke etmiştir (Grafik 6).



Grafik 6: Submaksimal konsantrasyonda (10^{-5} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam sıçan torasik aortu halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan irisinin oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde BK_{Ca} blokeri TEA inkübasyonunun (2 mM, 30 dk) etkisi (n=8)

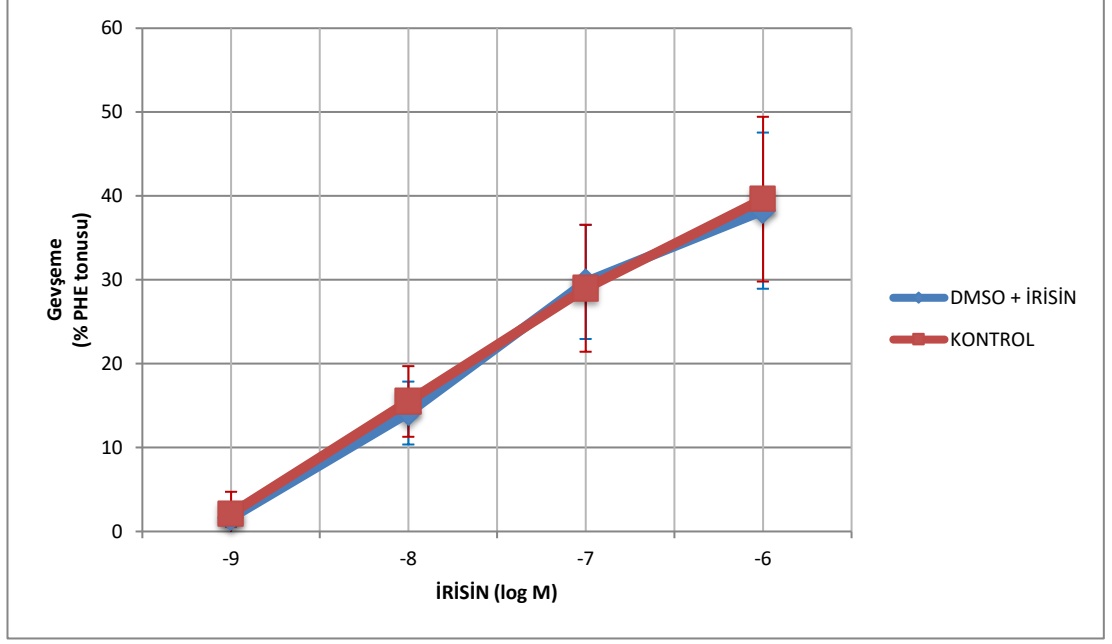
*: $p < 0,05$ (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

** : $p < 0,001$ (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Veriler ortalama \pm SS olarak ifade edilmiştir.

Dokuların 10 dk süreyle BIM I, U0126 ve XE-991 çözücüsü DMSO (çözücü konsantrasyonda) ile inkübasyonu irisine gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Çözücü konsantrasyonda DMSO inkübasyonu kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan irisinin 10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-6} M'lık konsantrasyonları ile oluşan gevşeme yanıtlarının hiçbirinde önemli düzeyde bir değişikliğe neden olmamıştır (DMSO varlığında ve yokluğunda 10^{-8} M için $p: 1,000$, $p > 0,05$; 10^{-7} M için $p: 1,000$, $p > 0,05$; 10^{-6} M için $p: 1,000$, $p > 0,05$). BIM I, U0126 ve XE-991 çözücüsü DMSO (çözücü konsantrasyonda) irisine gevşeme yanıtlarını etkilememiştir (Grafik 7).



Grafik 7: Submaksimal konsantrasyonda (10^{-5} M) PHE ile kasılmış endoteli sağlam sıçan torasik aortu halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan irisinin oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerinde BIM I, U0126 ve XE-991 çözücüsü DMSO inkübasyonunun (çözücü konsantrasyonda, 10 dk) etkisi (n=8)

Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Veriler ortalama \pm SS olarak ifade edilmiştir.

Tablo 1: Kontrol ve bloker/inhibitör gruplarında irisin konsantrasyonlarına bağlı yüzde gevşeme değerleri

Gruplar	Konsantrasyon	% Gevşeme	p değeri
Kontrol (n=8)	10 ⁻⁹ M	2,12 ± 2,61	0,840
	10 ⁻⁸ M	15,50 ± 4,21	0,000 **
	10 ⁻⁷ M	29,00 ± 7,57	0,000 **
	10 ⁻⁶ M	39,62 ± 9,82	0,000 **
BIM I (n=8)	10 ⁻⁹ M	0,00 ± 2,66	0,841
	10 ⁻⁸ M	0,50 ± 4,85	0,000 **
	10 ⁻⁷ M	0,00 ± 8,01	0,000 **
	10 ⁻⁶ M	0,00 ± 7,52	0,000 **
U0126 (n=8)	10 ⁻⁹ M	7,87 ± 4,35	0,139
	10 ⁻⁸ M	11,25 ± 5,63	0,875
	10 ⁻⁷ M	13,00 ± 5,80	0,010 *
	10 ⁻⁶ M	14,75 ± 6,60	0,002 *
XE-991 (n=8)	10 ⁻⁹ M	0,75 ± 2,62	0,999
	10 ⁻⁸ M	1,38 ± 2,30	0,000 **
	10 ⁻⁷ M	0,00 ± 2,39	0,000 **
	10 ⁻⁶ M	0,25 ± 3,25	0,000 **
Apamin (n=8)	10 ⁻⁹ M	7,50 ± 6,33	0,058
	10 ⁻⁸ M	13,13 ± 7,66	0,459
	10 ⁻⁷ M	16,50 ± 9,97	0,014 *
	10 ⁻⁶ M	23,37 ± 11,87	0,010 *
TEA (n=8)	10 ⁻⁹ M	1,87 ± 1,43	1,000
	10 ⁻⁸ M	2,50 ± 0,84	0,001 *
	10 ⁻⁷ M	2,12 ± 2,98	0,000 **
	10 ⁻⁶ M	4,00 ± 5,00	0,000 **
DMSO (n=8)	10 ⁻⁹ M	1,62 ± 1,03	1,000
	10 ⁻⁸ M	14,12 ± 3,75	1,000
	10 ⁻⁷ M	29,75 ± 6,80	1,000
	10 ⁻⁶ M	38,25 ± 9,31	1,000

*: p<0,05 (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

** : p<0,001 (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

Veriler ortalama ± SS olarak ifade edilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tıptaki büyük ilerlemelere rağmen arteriyel hipertansiyon, diabetes mellitus ve kronik böbrek hastalığının uygun şekilde tedavisi büyük bir sorun olmaya devam etmektedir. Teşhis ve tedavi edilmemiş arteriyel hipertansiyon veya diabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı gelişimine ve sonuç olarak kardiyovasküler sorunların oluşmasına yol açabilmektedir (Maciorkowska, Musiałowska, & Małyzsko, 2019).

Günümüzde özellikle insülin direnci, obezite ve Tip II diabetes mellitus ile bu hastalıklara bağlı olarak gelişen hipertansiyon ve ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıkların sıklığı artmaktadır. Koroner arter hastalığı ve inmenin ana nedeni olan ateroskleroz, gelişmiş dünyada önde gelen bir ölüm nedenidir (Peters, den Ruijter, Bots, & Moons, 2012). Aterosklerozun patofizyolojik mekanizmaları ve etiolojisi oldukça karmaşıktır (Stefano et al., 2015).

İskelet kası son yıllarda endokrin organ olarak tanımlanmıştır (Pedersen, Akerström, Nielsen, & Fischer, 2007). Miyokinler olarak bilinen, egzersiz sırasında veya hemen sonrasında iskelet kasından salınan sitokinler, egzersizin metabolizma ve kardiyovasküler sistem üzerindeki yararlı etkilerine aracılık eder (Pedersen, & Febbraio, 2012; Strasser, 2013).

İrisin, yukarıda belirtilen kronik hastalıkların gelişiminde ve ilerlemesinde önleyici ya da tedavi edici rol oynayabilme potansiyeline sahip yeni tanımlanan bir miyokindir. Bu bağlamda, irisinin vasküler lezyonların gelişiminin önlenmesinde ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde önemli bir terapötik hedef olabileceği değerlendirilmektedir. Hem sağlıklı hem de hasta kişilerin plazmasında ölçülen irisinin, vasküler dokudaki kesin işlevleri henüz tam olarak belirlenememiştir. Bununla birlikte, irisinin vasküler kontraktilite üzerine etkileri ve

bu etkilere aracılık eden metabolik yollar ile ilgili sınırlı sayıda da olsa bazı çalışmalar bulunmaktadır.

W. Zhang et al. (2015), rekombinant insan irisininin, sıçanların 3. beyin ventrikülüne uygulanması durumunda hipotalamusun paraventriküler çekirdeklerinde nöronları aktive ettiğini tespit etmişlerdir. İrisinin merkezi olarak verilmesi kan basıncını ve kardiyak kontraktiletiyi artırmıştır. Eksojen irisin, atenololün neden olduğu kardiyak kasılma inhibisyonunu tersine çevirmiştir. Buna karşılık, periferik irisin uygulaması hem kontrol hem de kendiliğinden hipertansif sıçanlarda kan basıncını düşürmüştür. İrisin mezenterik arter halkalarını ATP'ye duyarlı potasyum kanalları aracılığıyla genişletmiştir.

Han, Zhang, Hou, Wang, & Sun (2015), yüksek yağlı diyet ile indüklenen obez farelerde irisinin endotel fonksiyonu üzerine doğrudan vasküler koruyucu bir etkisinin olup olmadığını araştırmışlardır. Erkek C57BL/6 farelerine, irisin uygulanarak veya uygulanmayarak, yem verilmiştir veya yüksek yağlı bir diyet uygulanmıştır. Aortik endotel fonksiyonu, endotel bağımlı vazodilatasyon ölçülerek belirlenmiştir. Aortta NO tespit edilmiştir. İrisinin endotel hücrelerinde AMPK, Akt ve endotelial NO sentaz (eNOS) fosforilasyon seviyeleri üzerindeki etkisi belirlenmiştir. İrisinin AMPK-eNOS yolağındaki rolünü incelemek için insan umbilikal ven endotel hücreleri kullanılmıştır. Asetilkolinle uyarılmış endotel bağımlı vazodilatasyon, obez farelerde kontrol farelerine kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Obez farelere irisin uygulanması, endotel bağımlı vazodilatasyonu önemli ölçüde artırmış ve endotel fonksiyonunu iyileştirmiştir. İrisinin bu faydalı etkisi AMPK, Akt ve eNOS inhibitörlerinin varlığında kısmen zayıflatılmıştır. Obez farelere irisin uygulanması, endotelial hücrelerde AMPK, Akt ve eNOS'un NO üretimini ve fosforilasyonunu artırmıştır. Bu faktörler *in vitro* insan umbilikal ven endotelial hücrelerinde de irisin ile geliştirilmiştir. AMPK ekspresyonunun küçük susturucu RNA tarafından baskılanması, irisin kaynaklı eNOS ve Akt fosforilasyonu ve NO üretimi ile bloke edilmiştir. Böylece araştırmacılar, irisinin yüksek yağlı diyet kaynaklı obez farelerin aortunda endotel fonksiyonunu iyileştirdiğine dair ilk kanıtı elde ederek; bu koruyucu etki için

mekanizmanın AMPK-eNOS sinyal yolunun aktivasyonu ile ilgili olduğunu göstermişlerdir.

M. Jiang, Wan, Wang, & Wu (2015), fare mezenterik arterlerinde irisinin vasküler aktivite üzerindeki etkilerini ve içerdği mekanizmaları araştırmışlardır. Bu çalışmada, irisinin endotelyumu olan veya olmayan mezenterik arterlerde gevşemeyi konsantrasyona bağımlı şekilde indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca, endotel-intakt mezenterik arterler üzerindeki irisin kaynaklı vazorelaksasyon etkilerinin, L-NAME veya 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ) ön muamelesi ile azaltıldığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, seçici olmayan bir siklooksijenaz inhibitörü olan indometazin (INDO) ile ön muamele, irisine bağlı gevşemeyi modüle etmemiştir. Bunun yanı sıra, hücre dışı Ca^{+2} akışı ve hücre içi Ca^{+2} salımı nedeniyle oluşan kasılma da irisin tarafından inhibe edilmiştir. Bu sonuçlar, irisinin indüklediği endotel bağımlı gevşemeye PGI_2 -cAMP bağımlı mekanizmanın değil; NO-guanozin 3', 5'-siklik fosfat (cGMP) bağımlı yolağın aracılık ettiğini göstermiştir. Endotel bağımsız gevşemenin ise, voltaj-bağımlı kalsiyum kanallarının (*voltage-dependent calcium channels; VDCCs*) ve hem IP3R hem de RyR kanalları yoluyla hücre içi Ca^{+2} salımının bloke edilerek Ca^{+2} akışının inhibe edilmesine bağlı olabileceği belirtilmiştir.

Fu et al. (2016), yaptıkları çalışmada erkek Wistar-Kyoto (WKY) sıçanlarının ve kendiliğinden hipertansif sıçanların kan basınçlarını karotid arterden izlemişlerdir. Çalışmada, akut intravenöz irisin enjeksiyonunun kendiliğinden hipertansif sıçanlarda kan basıncını düşürdüğü, ancak WKY sıçanlarda düşürmediği bulunmuştur. İrisin, kendiliğinden hipertansif sıçanların PHE ile önceden kasılmış mezenterik arterlerinde tek başına doğrudan vazorelaksasyon etkisi göstermemiştir. Bununla birlikte, irisin kendiliğinden hipertansif sıçanların mezenterik arterlerinde asetilkolin kaynaklı vazorelaksasyonu artırmıştır. Bunun 100 $\mu\text{mol/L}$ L-NAME uygulaması ile tersine çevrilebilmesi nitrik oksitin buradaki rolünü göstermiştir. İrisin endotel hücrelerinde NO üretimini ve eNOS fosforilasyonunu artırmıştır. AMPK, irisinin vazorelaksasyon etkisine dahil olmuştur; çünkü bir AMPK inhibitörü olan C bileşiği (20 $\mu\text{mol/L}$), endotelial hücrelerde eNOS ve protein kinaz B (Akt)

fosforilasyonunda irisine bağılı artışı ve mezenterik arterlerde vazodilatasyonu bloke etmiştir.

Hou et al. (2016), irisinin obezitede hem oksijenaz-1 (HO-1)/adiponektin aksının düzenlenmesi yoluyla perivasküler adipoz doku (*perivascular adipose tissue; PVAT*) disfonksiyonunu iyileştirip iyileştiremeyeceğini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, C57BL/6 farelere irisin ile birlikte veya irisinsiz yüksek yağlı bir diyet uygulamıştır. PVAT(+) veya PVAT(-) torasik aort halkalarının fenilefrine konsantrasyona bağılı yanıtları organ banyosunda çalışılmıştır. HO-1 ve adiponektinin protein düzeyleri Western-Blot ile belirlenmiştir. Perivasküler adipoz dokuda UCP-1, Cidea ve TNF- α gen ekspresyonu ise gerçek zamanlı PCR ile analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda, obez farelerin irisin ile muamele edilmesinin glikoz ve lipit metabolizmasını geliştirdiği, TNF- α ve malondialdehitin plazma seviyelerini düşürdüğü ve plazma adiponektin seviyelerini artırdığı belirlenmiştir. PVAT'ın anti-kontraktıl etkileri, yüksek yağlı diyet farelerinde zayıflatılmış ve bu zayıflama, yüksek yağlı diyet farelerine irisin uygulanarak restore edilmiştir. İrisin uygulanmış yüksek yağlı diyet farelerinde PVAT(+) aort halkalarının HO-1 inhibitörü ve adiponektin reseptör bloke edici peptit ile inkübasyonu irisinin PVAT fonksiyonu üzerindeki faydalı etkilerini ortadan kaldırmıştır. Aynı sonuçlar, irisin uygulanmış yüksek yağlı diyet farelerinde *ex vivo*'da da gözlenmiştir. Yüksek yağlı diyet farelerinin irisin ile muamelesi, HO-1 ve adiponektinin protein seviyelerini önemli ölçüde artırır iken; PVAT'ta süperoksit üretimini ve TNF- α ekspresyonunu azaltmıştır. İrisin muamelesi, yüksek yağlı diyet farelerinin perivasküler adipoz dokularında kahverengi adiposit belirteçleri olan UCP-1 ve Cidea ekspresyonunu artırmıştır. Sonuç olarak, irisin diyetle indüklenen obez farelerde torasik aortta PVAT'ın anti-kontraktıl özelliklerini iyileştirmiştir. İrisinin koruyucu etkileri için mekanizmanın, PVAT'ta HO-1/adiponektin aksının up-regülasyonu ve PVAT'ın kahverengileşmesi ile ilgili olduğu görülmüştür.

Ye et al. (2017), primer kültürlenmiş sıçan mezenterik arter endotel hücrelerinde irisinin, hücre içi depolardan salınan Ca^{+2} yerine hücre dışı Ca^{+2} akışına bağılı olarak $[Ca^{+2}]_i$ artışına neden olduğunu belirtmiştir. Dahası, $[Ca^{+2}]_i$ 'deki irisin kaynaklı artışlar bir TRPV4 inhibitörü tarafından tamamen ortadan kaldırılmıştır.

İrisin, sıçan mezenterik arterlerinin endotel bağımlı vazodilatasyonunu indüklemiştir. Buna karşın, irisinin endotel bağımsız vazodilatasyon üzerinde etkisinin olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak, TRPV4 inhibitörü varlığında irisin kaynaklı vazodilatasyon tamamen ortadan kalkmış ve bu da TRPV4 kanallarının endotel bağımlı vazodilatasyonda rolünün olduğunu göstermiştir.

İrisinin çeşitli türlerden elde edilen değişik damar preparatlarındaki vazodilatör etkinliğinde farklılıklar görülebilmektedir. Bu durumun, dokunun alındığı tür, deneyin gerçekleştirildiği vasküler doku (damar dokusunun yeri ve çapı) ve/veya ön kasılma oluşturmak için kullanılan ajan gibi yöntemsel farklılıklara bağlı olabileceği düşünülmektedir. Arterlerin anatomik yapıları, reaktiviteleri ve embriyolojik kökenleri birbirinden farklıdır. Vasküler düz kasların çeşitli ajanlara yanıtlarındaki değişikliklerde arterin lokalizasyonu ve çapına bağlı olarak endotelden salınan maddelerdeki farklılıkların yanı sıra iyon transport mekanizmaları veya fizyolojik/farmakolojik reseptörlerin yoğunluğu ve tiplerinin de önemli bir rol oynayabileceği bilinmektedir (Clark, & Fuchs, 1997; Mulvany, & Aalkjaer, 1990). Örnek olarak, damar çapındaki azalma ile paralel bir şekilde hiperpolarizan faktörlerin önemi artmaktadır (de Wit, & Wöfle, 2007). Bu nedenle, bu çalışmada arterlerin tüm bu özellikleri değerlendirilerek literatürde ilk kez Wistar Albino türü sıçanlardan izole edilen torasik aort preparatlarında irisinin gevşetici etkisi araştırılmıştır. Bunun ötesinde, irisinin olası etki mekanizmalarının belirlenmesine yönelik yapılan yolak araştırmalarının daha önce herhangi bir tür ve/veya vasküler doku üzerinde yapılmadığı literatür taraması ile tespit edilmiştir.

Bu kapsamda, çalışmamızda irisinin 10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-6} M'lık konsantrasyonlarının iletim tipi bir arter olan sıçan torasik aortu halkalarında vazodilatatif etki gösterdiği rapor edilmiştir. Böylece, irisinin hem ortalama plazma konsantrasyonunda hem de bu konsantrasyonun alt ve üst katlarını kapsayacak şekilde geniş bir konsantrasyon aralığında vasküler düz kas kontraktilitesini gevşetici yönde etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca, PKC inhibitörü BIM I, MEK1/2 inhibitörü U0126, K_v blokeri XE-991, SK_{Ca} blokeri apamin ve BK_{Ca} blokeri TEA kullanılarak yapılan yolak araştırmalarından elde edilen sonuçlar, irisin ile oluşan gevşeme

yanıtlarında bu yolakların rollerinin olduğunu gösteren ilk literatür verilerini oluşturmuştur.

Sonuç olarak, bu çalışmada literatürde ilk kez irisinin iletim tipi bir arter olan sıçan torasik aortu preparatlarında fonksiyonel gevşetici etkisine yönelik fizyolojik bulgulara ulaşılmıştır. Bulgularımız, irisinin endoteli sağlam halkalarda konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturduğunu göstermiştir. Ayrıca, bu çalışma irisin ile indüklenen gevşeme yanıtlarının PKC etkinliği, MEK1/2 etkinliği, voltaja duyarlı K⁺ kanal etkinliği ve kalsiyumla aktive edilen K⁺ kanal etkinliği ile ilişkili olabileceğini bildiren ilk çalışmadır. Deneysel bulgularımız, irisinin adipoz dokuda UCP-1 ifadesinde artış sağlayarak termogenez ve kilo kaybı ile sonuçlanan enerji metabolizmasının düzenlenmesinde sahip olduğu anahtar rolüne ek olarak, hipertansiyon ve ateroskleroz gibi anormal vazokonstriksiyonla ilişkili hastalıkların tedavisinde yararlı bir ajan olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışma ayrıca, irisin salımına bağlı olarak egzersizin vasküler fonksiyonu modüle etmede önemli bir rol oynadığını ve vasküler fonksiyon üzerindeki yararlı etkisini desteklemektedir.

Bununla birlikte, çalışmamızda sunulan bulgular başlangıç niteliğindedir ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde irisinin etkinliğini belirlemek için daha ayrıntılı mekanizma çalışmaları ve *in-vivo* çalışmalar gereklidir. Ayrıca, farklı damarlar üzerinde yapılacak yeni çalışmalar ile irisinin etki mekanizmalarının aydınlatılması yönünde daha fazla veri sağlanarak şimdiye kadar yapılan çalışmalarla birlikte daha net sonuçlara ulaşılabilir.

6. KAYNAKLAR

- Adeagbo, A.S., & Triggle, C.R. (1993). Interactions of nitric oxide synthase inhibitors and dexamethasone with alpha-adrenoceptor-mediated responses in rat aorta. *British Journal of Pharmacology*, 109(2), 495-501. DOI: [10.1111/j.1476-5381.1993.tb13597.x](https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1993.tb13597.x)
- Afsar, S., Hemsinli, D., Ozyazgan, S., Akkan, A.G., & Arslan, C. (2016). The effects of potassium channels in human internal mammary artery. *Pharmacology*, 97, 72-77. DOI: [10.1159/000442528](https://doi.org/10.1159/000442528)
- Akcan, F. (2018). *Farklı şiddetlerde uygulanan aerobik ve anaerobik egzersizlerin sporcu ve sedanterlerde serum irisin seviyesine akut etkisinin incelenmesi* (Tez No. 524188) [Doktora tezi, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü]. Ulusal Tez Merkezi.
- Arıkan, Ş. (2018). The effect of acute exercise and gender on the levels of irisin in elite athletes. *Physical Education of Students*, 22, 304-07. DOI: [10.15561/20755279.2018.0604](https://doi.org/10.15561/20755279.2018.0604)
- Arıkan, Ş., Revan, S., Balcı, Ş.S., Şahin, M., & Serpek, B. (2018). Effect of training and gender on plasma irisin, leptin, and insulin levels. *International Journal of Applied Exercise Physiology*, 2, 1-8. DOI: [10.22631/ijaep.v7i2.219](https://doi.org/10.22631/ijaep.v7i2.219)
- Austin, S., & St-Pierre, J. (2012). PGC1alpha and mitochondrial metabolism--emerging concepts and relevance in ageing and neurodegenerative disorders. *Journal of Cell Science*, 125, 4963-4971. DOI: [10.1242/jcs.113662](https://doi.org/10.1242/jcs.113662)
- Aydin, S., Kuloglu, T., Aydin S., Eren, M.N., Celik, A., Yilmaz, M., ... Dabak, O. (2014). Cardiac, skeletal muscle and serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle. *Peptides*, 52, 68-73. DOI: [10.1016/j.peptides.2013.11.024](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.11.024)
- Baranowska, M., Kozłowska, H., Korbut, A., & Malinowska, B. (2007). Potassium channels in blood vessels: their role in health and disease, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Advances in Hygiene and Experimental Medicine)*, 61, 596-605.
- Benedini, S., Dozio, E., Invernizzi, P.L., Vianello, E., Banfi, G., Terruzzi, I., ... Romanelli, M.M.C. (2017). Irisin: A potential link between physical exercise and metabolism-an observational study in differently trained subjects, from elite athletes to sedentary people. *Hindawi Journal of Diabetes Research*, 2017(9), 1-7. DOI: [10.1155/2017/1039161](https://doi.org/10.1155/2017/1039161)
- Besse-Patin, A., Montastier, E., Vinel, C., Castan-Laurell, I., Louche, K., Dray, C., ... Viguerie, N. (2014). Effect of endurance training on skeletal muscle myokine expression in obese men: identification of apelin as a novel myokine. *International Journal of Obesity*, 38(5), 707-713. DOI: [10.1038/ijo.2013.158](https://doi.org/10.1038/ijo.2013.158)
- Bondarenko, A.I., Panasiuk, O., Drachuk, K., Montecucco, F., Brandt, K.J., & Mach, F. (2018). The quest for endothelial atypical cannabinoid receptor: BK_{Ca} channels act

as cellular sensors for cannabinoids in in vitro and in situ endothelial cells. *Vascular Pharmacology*, 102, 44-55. DOI: [10.1016/j.vph.2018.01.004](https://doi.org/10.1016/j.vph.2018.01.004)

Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M.P., Korde, A., Ye, L., Lo, J.C., ... Spiegelman, B.M. (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, 481, 463-468. DOI: [10.1038/nature10777](https://doi.org/10.1038/nature10777)

Brayden, J.E. (1996). Potassium channels in vascular smooth muscle. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 23(12), 1069-1076. DOI: [10.1111/j.1440-1681.1996.tb01172.x](https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.1996.tb01172.x)

Brenmoehl, J., Albrecht, E., Komolka, K., Schering, L., Langhammer, M., Hoeflich, A., & Maak, S. (2014). Irisin is elevated in skeletal muscle and serum of mice immediately after acute exercise. *International Journal of Biological Sciences*, 10(3), 338-349. DOI: [10.7150/ijbs.7972](https://doi.org/10.7150/ijbs.7972)

Brunner, H., Cockcroft, J.R., Deanfield, J., Donald, A., Ferrannini, E., Halcox, J., ... Webb, D.J. (2005). Endothelial function and dysfunction. Part II: association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *Journal of Hypertension*, 23(2), 233-246. DOI: [10.1097/00004872-200502000-00001](https://doi.org/10.1097/00004872-200502000-00001)

Bukoski, R.D., Shearin, S., Jackson, W.F., & Pamarthi, M.F. (2001). Inhibition of Ca²⁺-induced relaxation by oxidized tungsten wires and paratungstate. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 299(1), 343-350.

Cain, A.E., Tanner, D.M., & Khalil, R.A. (2002). Endothelin-1-induced enhancement of coronary smooth muscle contraction via MAPK dependent and MAPK independent [Ca²⁺]_i sensitization pathways. *Hypertension*, 39, 543-549. DOI: [10.1161/hy0202.103129](https://doi.org/10.1161/hy0202.103129)

Carr, G., Barrese, V., Stott, J.B., Povstyan, O.V., Jepps, T.A., Figueiredo, H.B., ... Greenwood, I.A. (2016). MicroRNA-153 targeting of KCNQ4 contributes to vascular dysfunction in hypertension. *Cardiovascular Research*, 112(2), 581-589. DOI: [10.1093/cvr/cvw177](https://doi.org/10.1093/cvr/cvw177)

Carvalho-de-Souza, J.L., Varanda, W.A., Tostes, R.C., & Chignalia, A.Z. (2013). BK channels in cardiovascular diseases and aging. *Aging and Disease*, 4(1), 38-49.

Caudill, T.K., Resta, T.C., Kanagy, N.L., & Walker, B.R. (1998). Role of endothelial carbon monoxide in attenuated vasoreactivity following chronic hypoxia. *The American Journal of Physiology*, 275, 1025-1030. DOI: [10.1152/ajpregu.1998.275.4.R1025](https://doi.org/10.1152/ajpregu.1998.275.4.R1025)

Chanda, D., Prieto-Lloret, J., Singh, A., Iqbal, H., Yadav, P., Snetkov, V., & Aaronson, P.I. (2016). Glabridin-induced vasorelaxation: evidence for a role of BK_{Ca} channels and cyclic GMP. *Life Sciences*, 165, 26-34. DOI: [10.1016/j.lfs.2016.09.018](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.09.018)

- Chen, N., Li, Q., Liu, J., & Jia, S. (2016). Irisin, an exercise-induced myokine as a metabolic regulator: an updated narrative review. *Diabetes/metabolism Research and Reviews*, 32(1), 51-59. DOI: [10.1002/dmrr.2660](https://doi.org/10.1002/dmrr.2660)
- Cheng, J., Mao, L., Wen, J., Li, P.Y., Wang, N., Tan, X.Q., ... Yang, Y. (2016). Different effects of hypertension and age on the function of large conductance calcium- and voltage-activated potassium channels in human mesentery artery smooth muscle cells. *Journal of the American Heart Association*, 5(9), e003913. DOI: [10.1161/JAHA.116.003913](https://doi.org/10.1161/JAHA.116.003913)
- Chitale, K., Weber, D., & Webb, R.C. (2001). RhoA/Rho-kinase, vascular changes, and hypertension. *Current Hypertension Reports*, 3(2), 139-144. DOI: [10.1007/s11906-001-0028-4](https://doi.org/10.1007/s11906-001-0028-4)
- Cicala, C., Morello, S., Iorio, C., Capasso, R., Borrelli, F., & Mascolo, N. (2003). Vascular effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on isolated rat thoracic aorta. *Life Sciences*, 73(1), 73-80. DOI: [10.1016/S0024-3205\(03\)00235-2](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(03)00235-2)
- Clark, S.G., & Fuchs, L.C. (1997). Role of nitric oxide and Ca⁺⁺-dependent K⁺ channels in mediating heterogeneous microvascular responses to acetylcholine in different vascular beds. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 282(3), 1473-1479.
- Cox, R.H. (2005). Molecular determinants of voltage-gated potassium currents in vascular smooth muscle. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 42(2), 167-195. DOI: [10.1385/CBB:42:2:167](https://doi.org/10.1385/CBB:42:2:167)
- Cox, R.H., & Fromme, S. (2016). Comparison of voltage gated K⁺ currents in arterial myocytes with heterologously expressed K_v subunits. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 74(4), 499-511. DOI: [10.1007/s12013-016-0763-4](https://doi.org/10.1007/s12013-016-0763-4)
- Crujeiras, A., Pardo, M., & Casanueva, F. (2015). Irisin: 'fat' or artefact. *Clinical Endocrinology*, 82(4), 467-474. DOI: [10.1111/cen.12627](https://doi.org/10.1111/cen.12627)
- Çetin, A. (2011). *Rat aortik primer vasküler düz kas hücre kültüründe yüksek glukozlu ortamda anjiyotensin II uyarımı ile oluşan hücre proliferasyonu üzerine resveratrolün etkileri* (Tez No. 294320) [Doktora tezi, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü]. Ulusal Tez Merkezi.
- D'Angelo, G., & Adam, L.P. (2002). Inhibition of ERK attenuates force development by lowering myosin light chain phosphorylation. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 282(2): H602-H610. DOI: [10.1152/ajpheart.00221.2001](https://doi.org/10.1152/ajpheart.00221.2001)
- Daskalopoulou, S.S., Cooke, A.B., Gomez, Y.H., Mutter, A.F., Filippaios, A., Mesfum, E.T., & Mantzoros, C.S. (2014). Plasma irisin levels progressively increase in response to increasing exercise workloads in young, healthy, active subjects. *European Journal of Endocrinology*, 171(3), 343-52. DOI: [10.1530/EJE-14-0204](https://doi.org/10.1530/EJE-14-0204)

de Wit, C., & Wölfle, S.E. (2007). EDHF and gap junctions: important regulators of vascular tone within the microcirculation. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 8(1), 11-25. DOI: [10.2174/138920107779941462](https://doi.org/10.2174/138920107779941462)

Denizli, B. (2009). *Radyasyona bağlı akut pulmoner toksisitede dimetil sülfoksit'in koruyucu etkisinin 99mtc--dietilentriaminpentaasetik asit transalveoler klirens sintigrafisi ve histopatoloji ile araştırılması* (Tez No. 248351) [Uzmanlık tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı]. Ulusal Tez Merkezi.

Denning, M.F., Dlugosz, A.A., Howett, M.K., & Yuspa, S.H. (1993). Expression of an oncogenic rasHa gene in murine kerat inocytes induces tyrosine phosphorylation and reduced activity of protein kinase C delta. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(35), 26079-26081.

Dessey, C., Kim, I., Sougnez, C.L., Laporte, R., & Morgan, K.G. (1998). A role for MAP kinase differentiated smooth muscle contraction evoked by a-adrenoceptor stimulation. *The American Journal of Physiology*, 275(4), C1081-C1086. DOI: [10.1152/ajpcell.1998.275.4.C1081](https://doi.org/10.1152/ajpcell.1998.275.4.C1081)

di Villa Bianca, R.E., Lippolis, L., Autore, G., Popolo, A., Marzocco, S., Sorrentino, L., ... Sorrentino, R. (2003). Dexamethasone improves vascular hyporeactivity induced by LPS in vivo by modulating ATP-sensitive potassium channels activity. *British Journal of Pharmacology*, 140(1), 91-96. DOI: [10.1038/sj.bjp.0705406](https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705406)

Dong, C., Davis, R.J., & Flavell, R.A. (2002). MAP kinases in the immune response. *Annual Review of Immunology*, 20, 55-72. DOI: [10.1146/annurev.immunol.20.091301.131133](https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.091301.131133)

Dong, D-L., Bai, Y-L., & Cai, B-Z. (2016). Calcium-activated potassium channels: potential target for cardiovascular diseases. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 104, 233-261. DOI: [10.1016/bs.apcsb.2015.11.007](https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2015.11.007)

Dun, S.L., Lyu, R-M., Chen, Y-H., Chang, J-K., Luo, J.J., & Dun, N.J. (2013). Irisin-immunoreactivity in neural and non-neural cells of the rodent. *Neuroscience*, 240, 155-162. DOI: [10.1016/j.neuroscience.2013.02.050](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.02.050)

Eichhorn, B., & Dobrev, D. (2007). Vascular large conductance calcium-activated potassium channels: functional role and therapeutic potential. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 376(3), 145-155. DOI: [10.1007/s00210-007-0193-3](https://doi.org/10.1007/s00210-007-0193-3)

Elbelt, U., Hofmann, T., & Stengel, A. (2013). Irisin: what promise does it hold?. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 16(5), 541-547. DOI: [10.1097/MCO.0b013e328363bc65](https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328363bc65)

Ellefsen, S., Vikmoen, O., Slettalokken, G., Whist, J.E., Nygaard, N., Hollan, I., ... Ronnestad, B.R. (2014). Irisin and FNDC5: effects of 12-week strength training, and relations to muscle phenotype and body mass composition in untrained women. *European Journal of Applied Physiology*, 114(9), 1875-1888. DOI: [10.1007/s00421-014-2922-x](https://doi.org/10.1007/s00421-014-2922-x)

- Fajardo, L.F. (1989). Special report the complexity of endothelial cells: a review. *American Journal of Clinical Pathology*, 92(2), 241-250. DOI: [10.1093/ajcp/92.2.241](https://doi.org/10.1093/ajcp/92.2.241)
- Faraci, F.M., & Sigmund, C.D. (1999). Vascular biology in genetically altered mice: smaller vessels, bigger insight. *Circulation Research*, 85(12), 1214-1225. DOI: [10.1161/01.res.85.12.1214](https://doi.org/10.1161/01.res.85.12.1214)
- Firth, A.L., Remillard, C.V., Platoshyn, O., Fantozzi, I., Ko, E.A., & Yuan, J.X.-J. (2011). Functional ion channels in human pulmonary artery smooth muscle cells: voltage-dependent cation channels. *Pulmonary Circulation*, 1(1), 48-71. DOI: [10.4103/2045-8932.78103](https://doi.org/10.4103/2045-8932.78103)
- Fu, J., Han, Y., Wang, J., Liu, Y., Zheng, S., Zhou, L., ... Zeng, C. (2016). Irisin lowers blood pressure by improvement of endothelial dysfunction via AMPK-Akt-eNOS-NO pathway in the spontaneously hypertensive rat. *Journal of the American Heart Association*, 5(11), e003433. DOI: [10.1161/JAHA.116.003433](https://doi.org/10.1161/JAHA.116.003433)
- Garrington, T.P., & Johnson, G.L. (1999). Organization and regulation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Current Opinion in Cell Biology*, 11(2), 211-218. DOI: [10.1016/s0955-0674\(99\)80028-3](https://doi.org/10.1016/s0955-0674(99)80028-3)
- González, C., Baez-Nieto, D., Valencia, I., Oyarzún, I., Rojas, P., Naranjo, D., & Latorre, R. (2012). K⁺ channels: function-structural overview. *Comprehensive Physiology*, 2(3), 2087-2149. DOI: [10.1002/cphy.c110047](https://doi.org/10.1002/cphy.c110047)
- Grimm, P.R., & Sansom, S.C. (2010). BK channels and a new form of hypertension. *Kidney International*, 78(10), 956-962. DOI: [10.1038/ki.2010.272](https://doi.org/10.1038/ki.2010.272)
- Guéguinou, M., Chantôme, A., Fromont, G., Bougnoux, P., Vandier, C., & Potier-Cartreau, M. (2014). K_{Ca} and Ca²⁺ channels: the complex thought. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1843(10), 2322-2333. DOI: [10.1016/j.bbamcr.2014.02.019](https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2014.02.019)
- Haick, J.M., & Byron, K.L. (2016). Novel treatment strategies for smooth muscle disorders: targeting K_v7 potassium channels. *Pharmacology and Therapeutics*, 165, 14-25. DOI: [10.1016/j.pharmthera.2016.05.002](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.05.002)
- Han, F., Zhang, S., Hou, N., Wang, D., & Sun, X. (2015). Irisin improves endothelial function in obese mice through the AMPK-eNOS pathway. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 309(9), H1501-H1508. DOI: [10.1152/ajpheart.00443.2015](https://doi.org/10.1152/ajpheart.00443.2015)
- Handschin, C., & Spiegelman, B.M. (2008). The role of exercise and PGC1alpha in inflammation and chronic disease. *Nature*, 454(7203), 463-469. DOI: [10.1038/nature07206](https://doi.org/10.1038/nature07206)
- Hayabuchi, Y., Davies, N.W., & Standen, N.B. (2001). Angiotensin II inhibits rat arterial K_{ATP} channels by inhibiting steady-state protein kinase A activity and activating protein kinase C. *The Journal of Physiology*, 530, 193-205. DOI: [10.1111/j.1469-7793.2001.01931.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.01931.x)

- Hayabuchi, Y., Standen, N.B., & Davies, N.W. (2001). Angiotensin II inhibits and alters kinetics of voltage-gated K⁺ channels of rat arterial smooth muscle. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 281(6), H2480-H2489. DOI: [10.1152/ajpheart.2001.281.6.H2480](https://doi.org/10.1152/ajpheart.2001.281.6.H2480)
- Hecksteden, A., Wegmann, M., Steffen, A., Kraushaar, J., Morsch, A., Ruppenthal, S., ... Meyer, T. (2013). Irisin and exercise training in humans - results from a randomized controlled training trial. *BMC Medicine*, 11, 235. DOI: [10.1186/1741-7015-11-235](https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-235)
- Hofmann, T., Elbelt, U., & Stengel, A. (2014). Irisin as a muscle-derived hormone stimulating thermogenesis--a critical update. *Peptides*, 54, 89-100. DOI: [10.1016/j.peptides.2014.01.016](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.01.016)
- Holland, M., Langton, P.D., Standen, N.B., & Boyle, J.P. (1996). Effects of the BK_{Ca} channel activator, NS1619, on rat cerebral artery smooth muscle. *British Journal of Pharmacology*, 117(1), 119-129. DOI: [10.1111/j.1476-5381.1996.tb15163.x](https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1996.tb15163.x)
- Hou, N., Han, F., & Sun, X. (2015). The relationship between circulating irisin levels and endothelial function in lean and obese subjects. *Clinical Endocrinology*, 83(3), 339-343. DOI: [10.1111/cen.12658](https://doi.org/10.1111/cen.12658)
- Hou, N., Liu, Y., Han, F., Wang, D., Hou, X., Hou, S., & Sun, X. (2016). Irisin improves perivascular adipose tissue dysfunction via regulation of the heme oxygenase-1/adiponectin axis in diet-induced obese mice. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 99, 188-196. DOI: [10.1016/j.yjmcc.2016.09.005](https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.09.005)
- Hu, Z.W., Shi, X.Y., Lin, R.Z., Chen, J., & Hoffman, B.B. (1999). alpha1-Adrenergic receptor stimulation of mitogenesis in human vascular smooth muscle cells: role of tyrosine protein kinases and calcium in activation of mitogen-activated protein kinase. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290(1), 28-37.
- Huh, J.Y., Panagiotou, G., Mougios, V., Brinkoetter, M., Vamvini, M.T., Schneider, B.E., & Mantzoros, C.S. (2012). FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 61(12), 1725-1738. DOI: [10.1016/j.metabol.2012.09.002](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2012.09.002)
- Huh, J.Y., Siopi, A., Mougios, V., Park, K.H., & Mantzoros, C.S. (2015). Irisin in response to exercise in humans with and without metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(3), E453-E457. DOI: [10.1210/jc.2014-2416](https://doi.org/10.1210/jc.2014-2416)
- Imura, N., Shiraishi, Y., Katsuya, H., & Itoh, T. (1998). Effect of propofol on norepinephrine-induced increases in [Ca²⁺]_i and force in smooth muscle of the rabbit mesenteric resistance artery. *Anesthesiology Journal*, 88, 1566-1578.
- Jackson, W.F. (2017). Potassium channels in regulation of vascular smooth muscle contraction and growth. *Advances in Pharmacology*, 78, 89-144. DOI: [10.1016/bs.apha.2016.07.001](https://doi.org/10.1016/bs.apha.2016.07.001)

- Jepps, T.A., Olesen, S.P., & Greenwood, I.A. (2013). One man's side effect is another man's therapeutic opportunity: targeting K_v7 channels in smooth muscle disorders. *British Journal of Pharmacology*, 168(1), 19-27. DOI: [10.1111/j.1476-5381.2012.02133.x](https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02133.x)
- Jespersen, B., Tykocki, N.R., Watts, S.W., & Cobbett, P.J. (2015). Measurement of smooth muscle function in the isolated tissue bath-applications to pharmacology research. *Journal of Visualized Experiments*, 19(95), 52324. DOI: [10.3791/52324](https://doi.org/10.3791/52324)
- Jiang, B., Xu, S., Hou, X., Pimentel, D.R., Brecher, P., & Cohen, R.A. (2004). Temporal control of NF-kappaB activation by ERK differentially regulates interleukin-1beta-induced gene expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(2), 1323-1329. DOI: [10.1074/jbc.M307521200](https://doi.org/10.1074/jbc.M307521200)
- Jiang, M., Wan, F., Wang, F., & Wu, Q. (2015). Irisin relaxes mouse mesenteric arteries through endothelium-dependent and endothelium-independent mechanisms. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 468(4), 832-836. DOI: [10.1016/j.bbrc.2015.11.040](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.11.040)
- Jozkow, P., Kozlenia, D., Zawadzka, K., Konefał, M., Chmura, P., Młynarska, K., ... Ponikowski, P. (2019). Effects of running a marathon on irisin concentration in men aged over 50. *The Journal of Physiological Sciences*, 69(1), 79-84. DOI: [10.1007/s12576-018-0619-3](https://doi.org/10.1007/s12576-018-0619-3)
- Kabasakalis, A., Nikolaidis, S., Tsalis, G., Christoulas, K., & Mougios, V. (2019). Effects of sprint interval exercise dose and sex on circulating irisin and redox status markers in adolescent swimmers. *Journal of Sports Sciences*, 37(7), 827-832. DOI: [10.1080/02640414.2018.1530056](https://doi.org/10.1080/02640414.2018.1530056)
- Kayaalp, S.O. (2000). *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık. s.1145-1195.
- Kelly, D.P. (2012). Medicine. Irisin, light my fire. *Science*, 336, 42-43. DOI: [10.1126/science.1221688](https://doi.org/10.1126/science.1221688)
- Kenakin, T. (2001). Isolated blood vessel assays. *Current Protocols in Pharmacology*, Chapter 4:Unit4.4. DOI: [10.1002/0471141755.ph0404s00](https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0404s00)
- Ketonen, J. (2010). *Vascular dysfunction in diet-induced hypertension and obesity in mice* (Publication No. 23) [Dissertation, University of Eastern Finland Faculty of Health Sciences / School of Pharmacy]. Dissertations in Health Sciences. Permanent link: [URN:ISBN:978-952-61-0188-0](https://urn.fi/URN:ISBN:978-952-61-0188-0)
- Khalafi, M., Shabkhız, F., Alamdari, K.A., & Bakhtiyari, A. (2016). Irisin response to two types of exercise training in type 2 diabetic male rats. *Arak Medical University Journal*, 19(6), 37-45.
- Kishimoto, A., Takai, Y., Mori, T., Kikkawa, U., & Nishizuka, Y. (1980). Activation of calcium and phospholipid-dependent protein kinase by diacylglycerol, its possible relation to phosphatidylinositol turnover. *The Journal of Biological Chemistry*, 255(6), 2273-2276.

Kleinert, H., Boissel, J-P., Schwarz, P.M., & Förstermann, U. (2000). Regulation of the expression of nitric oxide synthase isoforms. In L.J. Ignarro (Eds.), *Nitric oxide, biology and pathobiology* (pp. 105-128). USA: Academic Press.

Ko, E.A., Han, J., Jung, I.D., & Park, W.S. (2008). Physiological roles of K⁺ channels in vascular smooth muscle cells. *Journal of Smooth Muscle Research*, 44(2), 65-81. DOI: [10.1540/jsmr.44.65](https://doi.org/10.1540/jsmr.44.65)

Ko, E.A., Park, W.S., Firth, A.L., Kim, N., Yuan, J.X.J., & Han, J. (2010). Pathophysiology of voltage-gated K⁺ channels in vascular smooth muscle cells: modulation by protein kinases. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 103(1), 95-101. DOI: [10.1016/j.pbiomolbio.2009.10.001](https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2009.10.001)

Kolch, W. (2000). Meaningful relationships: the regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. *The Biochemical Journal*, 351, 289-305.

Korovkina, V.P., & England, S.K. (2000). Molecular diversity of vascular potassium channel isoforms. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 29(4), 317-323. DOI: [10.1046/j.1440-1681.2002.03651.x](https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2002.03651.x)

Kossmann, C.E., & Palade, G.E. (1961). Blood capillaries of the heart and other organs. *Circulation*, 24, 368-384. DOI: [10.1161/01.CIR.24.2.368](https://doi.org/10.1161/01.CIR.24.2.368)

Kraemer, R.R., Shockett, P., Webb, N.D., Shah, U., & Castracane, V.D. (2014). A transient elevated irisin blood concentration in response to prolonged, moderate aerobic exercise in young men and women. *Hormone and Metabolic Research*, 46(2), 150-154. DOI: [10.1055/s-0033-1355381](https://doi.org/10.1055/s-0033-1355381)

Kurdiova, T., Balaz, M., Vician, M., Maderova, D., Vlcek, M., Valkovic, L., ... Ukropcova, B. (2014). Effects of obesity, diabetes and exercise on Fndc5 gene expression and irisin release in human skeletal muscle and adipose tissue: *in vivo* and *in vitro* studies. *The Journal of Physiology*, 592(5), 1091-1107. DOI: [10.1113/jphysiol.2013.264655](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.264655)

Küçük, C. (1999). *Deneyisel tıkanma sarılığında dimetilsulfoksit'in etkisi* (Tez No. 91181) [Uzmanlık tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı]. Ulusal Tez Merkezi.

Küçük, H. (2018). *Aerobik ve anaerobik kapasitenin serum irisin, leptin, ghrelin seviyelerine etkisi* (Tez No. 513093) [Doktora tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü]. Ulusal Tez Merkezi.

Lawson, K., & McKay, N.G. (2006). Modulation of potassium channels as a therapeutic approach. *Current Pharmaceutical Design*, 12(4), 459-470. DOI: [10.2174/138161206775474477](https://doi.org/10.2174/138161206775474477)

Liu, J.J., Wong, M.D., Toy, W.C., Tan, C.S., Liu, S., Ng, X.W., ... Lim S.C. (2013). Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 27(4), 365-369. DOI: [10.1016/j.jdiacomp.2013.03.002](https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2013.03.002)

- Liu, S., Du, F., Li, X., Wang, M., Duan, R., Zhang, J., ... Zhang, Q. (2017). Effects and underlying mechanisms of irisin on the proliferation and apoptosis of pancreatic β cells. *PloS One*, 12(4), e0175498. DOI: [10.1371/journal.pone.0175498](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175498)
- López-Dyck, E., Andrade-Urzuá, F., Elizalde, A., Ferrer-Villada, T., Dagnino-Acosta, A., Huerta, M., ... Sánchez-Pastor, E. (2017). ACPA and JWH-133 modulate the vascular tone of superior mesenteric arteries through cannabinoid receptors, BK_{Ca} channels, and nitric oxide dependent mechanisms. *Pharmacological Reports*, 69(6), 1131-1139. DOI: [10.1016/j.pharep.2017.06.011](https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.06.011)
- Lu, Y., Li, H., Shen, S.W., Shen, Z.H., Xu, M., Yang, C.J., ... Qi, H.J. (2016). Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high-fat-diet fed Wistar rats. *Lipids in Health Disease*, 15, 93. DOI: [10.1186/s12944-016-0263-y](https://doi.org/10.1186/s12944-016-0263-y)
- Lu, Z., & Xu, S. (2006). ERK1/2 MAP kinases in cell survival and apoptosis. *IUBMB Life*, 58(11), 621-631. DOI: [10.1080/15216540600957438](https://doi.org/10.1080/15216540600957438)
- Ma, C., Zhuang, Y., & Xu, Y. (1999). The effect of inhibition of nitric oxide synthesis on vasoregulatory factors in pregnant rats. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 34(9), 521-524.
- Maciorkowska, M., Musiałowska, D., & Małyszko, J. (2019). Adropin and irisin in arterial hypertension, diabetes mellitus and chronic kidney disease. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 28(11), 1571-1575. DOI: [10.17219/acem/104551](https://doi.org/10.17219/acem/104551)
- McCarron, J.G., Chalmers, S., Bradley, K.N., MacMillan, D., & Muir, T.C. (2006). Ca²⁺ microdomains in smooth muscle. *Cell Calcium*, 40, 461-493. DOI: [10.1016/j.ceca.2006.08.010](https://doi.org/10.1016/j.ceca.2006.08.010)
- Meech, R.W. (1972). Intracellular calcium injection causes increased potassium conductance in aplysia nerve cells. *Comparative Biochemistry and Physiology. A, Comparative Physiology*, 42(2), 493-499. DOI: [10.1016/0300-9629\(72\)90128-4](https://doi.org/10.1016/0300-9629(72)90128-4)
- Mironneau, J., & Macrez-Lepretre, N. (1995). Modulation of Ca²⁺ channels by alpha 1A- and alpha 2A-adrenoceptors in vascular myocytes: involvement of different transduction pathways. *Cell Signalling*, 7(5), 471-479. DOI: [10.1016/0898-6568\(95\)00014-g](https://doi.org/10.1016/0898-6568(95)00014-g)
- Moon, H.S., & Mantzoros, C.S. (2014). Regulation of cell proliferation and malignant potential by irisin in endometrial, colon, thyroid and esophageal cancer cell lines. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 63(2), 188-193. DOI: [10.1016/j.metabol.2013.10.005](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2013.10.005)
- Moreno-Navarrete, J.M., Ortega, F., Serrano, M., Guerra, E., Pardo, G., Tinahones, F., ... Fernández-Real, J.M. (2013). Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(4), E769-E778. DOI: [10.1210/jc.2012-2749](https://doi.org/10.1210/jc.2012-2749)

- Mulvany, M.J., & Aalkjaer, C. (1990). Structure and function of small arteries. *Physiological Reviews*, 70(4), 921-961. DOI: [10.1152/physrev.1990.70.4.921](https://doi.org/10.1152/physrev.1990.70.4.921)
- Muto, A., Fitzgerald, T.N., Pimiento, J.M., Maloney, S.P., Teso, D., Paszkowiak, J.J., ... Dardik, A. (2007). Smooth muscle cell signal transduction: implications of vascular biology for vascular surgeons. *Journal of Vascular Surgery*, 45, 15-24. DOI: [10.1016/j.jvs.2007.02.061](https://doi.org/10.1016/j.jvs.2007.02.061)
- Nelson, M.T., & Quayle, J.M. (1995). Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *The American Journal of Physiology*, 268, C799-C822. DOI: [10.1152/ajpcell.1995.268.4.C799](https://doi.org/10.1152/ajpcell.1995.268.4.C799)
- Nelson, M.T., Cheng, H., Rubart, M., Santana, L.F., Bonev, A.D., Knot, H.J., & Lederer, W.J. (1995). Relaxation of arterial smooth muscle by calcium sparks. *Science*, 270, 633-637. DOI: [10.1126/science.270.5236.633](https://doi.org/10.1126/science.270.5236.633)
- Nelson, M.T., Patlak, J.B., Worley, J.F., & Standen, N.B. (1990). Calcium channels, potassium channels, and voltage dependence of arterial smooth muscle tone. *The American Journal of Physiology*, 259, C3-C18. DOI: [10.1152/ajpcell.1990.259.1.C3](https://doi.org/10.1152/ajpcell.1990.259.1.C3)
- Nilsson, H., & Sjoblom, N. (1985). Distension-dependent changes in noradrenaline sensitivity in small arteries from the rat. *Acta physiologica Scandinavica*, 125(3), 429-435. DOI: [10.1111/j.1748-1716.1985.tb07739.x](https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1985.tb07739.x)
- Nishijima, Y., Korishettar, A., Chabowski, D.S., Cao, S., Zheng, X., Gutterman, D.D., & Zhang, D.X. (2018). Shaker-related voltage-gated K⁺ channel expression and vasomotor function in human coronary resistance arteries. *Microcirculation*, 25(1), e12431. DOI: [10.1111/micc.12431](https://doi.org/10.1111/micc.12431)
- Nishizuka, Y. (1998). The molecular heterogeneity of protein kinase C and implications for cellular regulation. *Nature*, 334, 661-665. DOI: [10.1038/334661a0](https://doi.org/10.1038/334661a0)
- Niu, L.G., Zhang, M.S., Liu, Y., Xue, W.X., Liu, D.B., Zhang, J., & Liang, Y.Q. (2008). Vasorelaxant effect of taurine is diminished by tetraethylammonium in rat isolated arteries. *European Journal of Pharmacology*, 580, 169-174. DOI: [10.1016/j.ejphar.2007.10.039](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.10.039)
- Norheim, F., Langleite, T.M., Hjorth, M., Holen, T., Kielland, A., Stadheim, H.K., ... Drevon, C.A. (2014). The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *The FEBS Journal*, 281(3), 739-749. DOI: [10.1111/febs.12619](https://doi.org/10.1111/febs.12619)
- Novakovic, A., Marinko, M., Vranic, A., Jankovic, G., Milojevic, P., Stojanovic, I., ... He, G.W. (2015). Mechanisms underlying the vasorelaxation of human internal mammary artery induced by (-)-epicatechin. *European Journal of Pharmacology*, 762, 306-312. DOI: [10.1016/j.ejphar.2015.05.066](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.05.066)
- Novakovic, A., Pavlovic, M., Stojanovic, I., Milojevic, P., Babic, M., Ristic, S., ... He, G-W. (2011). Different K⁺ channels are involved in relaxation of arterial and venous graft induced by nicorandil. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 58(6), 602-608. DOI: [10.1097/FJC.0b013e31823003f2](https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e31823003f2)

- Novelle, M.G., Contreras, C., Romero-Pico, A., Lopez, M., & Dieguez, C. (2013). Irisin, two years later. *International Journal of Endocrinology*, 2013, 746281. DOI: [10.1155/2013/746281](https://doi.org/10.1155/2013/746281)
- Nygaard, H., Slettaløkken, G., Vegge, G., Hollan, I., Whist, J.E., Strand, T., ... Ellefsen, S. (2015). Irisin in blood increases transiently after single sessions of intense endurance exercise and heavy strength training. *PloS One*, 10(3), e0121367. DOI: [10.1371/journal.pone.0121367](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121367)
- Olschewski, A. (2010). Targeting TASK-1 channels as a therapeutic approach. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 661, 459-473. DOI: [10.1007/978-1-60761-500-2_30](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-500-2_30)
- Olschewski, A., Veale, E.L., Nagy, B.M., Nagaraj, C., Kwapiszewska, G., Antigny, F., ... Mathie, A. (2017). TASK-1 (KCNK3) channels in the lung: from cell biology to clinical implications. *The European Respiratory Journal*, 50(5), 1700754. DOI: [10.1183/13993003.00754-2017](https://doi.org/10.1183/13993003.00754-2017)
- Owens, G.K., Kumar, M.S., & Wamhoff, B.R. (2004). Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. *Physiological Reviews*, 84(3), 767-801. DOI: [10.1152/physrev.00041.2003](https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2003)
- Palacios-González, B., Vadillo-Ortega, F., Polo-Oteyza, E., Sánchez, T., Ancira-Moreno, M., Romero-Hidalgo, S., ... Antuna-Puente, B. (2015). Irisin levels before and after physical activity among school-age children with different BMI: a direct relation with leptin. *Obesity*, 23(4), 729-732. DOI: [10.1002/oby.21029](https://doi.org/10.1002/oby.21029)
- Pang, M., Yang, J., Rao, J., Wang, H., Zhang, J., Wang, S., ... Dong, X. (2018). Time-dependent changes in increased levels of plasma irisin and muscle pgc-1 α and fndc5 after exercise in mice. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 244(2), 93-103. DOI: [10.1620/tjem.244.93](https://doi.org/10.1620/tjem.244.93)
- Park, K.H., Zaichenko, L., Brinkoetter, M., Thakkar, B., Sahin-Efe, A., Joung, K.E., ... Mantzoros, C.S. (2013). Circulating irisin in relation to insulin resistance and the metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(12), 4899-4907. DOI: [10.1210/jc.2013-2373](https://doi.org/10.1210/jc.2013-2373)
- Pedersen, B.K., & Febbraio, M.A. (2012). Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nature Reviews. Endocrinology*, 8(8), 457-465. DOI: [10.1038/nrendo.2012.49](https://doi.org/10.1038/nrendo.2012.49)
- Pedersen, B.K., Akerström, T.C.A., Nielsen, A.R., & Fischer, C.P. (2007). Role of myokines in exercise and metabolism. *Journal of Applied Physiology*, 103(3), 1093-1098. DOI: [10.1152/jappphysiol.00080.2007](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00080.2007)
- Pekkala, S., Wiklund, P.K., Hulmi, J.J., Ahtiainen, J.J., Horttanainen, M., Pöllänen, E., ... Cheng, S. (2013). Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health?. *The Journal of Physiology*, 591(21), 5393-5400. DOI: [10.1113/jphysiol.2013.263707](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.263707)

Pelaia, G., Cuda, G., Vatrella, A., Fratto, D., Tagliaferri, P., Maselli, R., ... Marsico, S.A. (2003). Mitogen-activated protein kinases: new molecular targets for pharmacological treatment of inflammatory lung diseases. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents*, 2(2), 131-141. DOI: [10.2174/1568014033483770](https://doi.org/10.2174/1568014033483770)

Peters, S.A., den Ruijter, H.M., Bots, M.L., & Moons, K.G. (2012). Improvements in risk stratification for the occurrence of cardiovascular disease by imaging subclinical atherosclerosis: a systematic review. *Heart (British Cardiac Society)*, 98(3), 177-184. DOI: [10.1136/heartjnl-2011-300747](https://doi.org/10.1136/heartjnl-2011-300747)

Phoenix, P. (2020, 9 Mart). Catalog 2015. Retrieved from <https://www.phoenixpeptide.com/doc/Catalog2015-17.pdf>

Platanias, L.C. (2003). Map kinase signaling pathways and hematologic malignancies. *Blood*, 101(12), 4667-4679. DOI: [10.1182/blood-2002-12-3647](https://doi.org/10.1182/blood-2002-12-3647)

Polyzos, S.A., & Mantzoros, C.S. (2015). An update on the validity of irisin assays and the link between irisin and hepatic metabolism. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 64(9), 937-942. DOI: [10.1016/j.metabol.2015.06.005](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.06.005)

Qiu, S., Cai, X., Sun, Z., Schumann, U., Zügel, M., & Steinackern, J.M. (2015). Chronic exercise training and circulating irisin in adults: a meta-analysis. *Sports Medicine*, 45(11), 1577-1588. DOI: [10.1007/s40279-014-0293-4](https://doi.org/10.1007/s40279-014-0293-4)

Rainbow, R.D., Norman, R.I., Everitt, D.E., Brignell, J.L., Davies, N.W., & Standen, N.B. (2009). Endothelin-I and angiotensin II inhibit arterial voltage-gated K⁺ channels through different protein kinase C isoenzymes. *Cardiovasc Research*, 83(3), 493-500. DOI: [10.1093/cvr/cvp143](https://doi.org/10.1093/cvr/cvp143)

Rizk, F.H., Elshweikh, S.A., & Abd El-Naby, A.Y. (2016). Irisin levels in relation to metabolic and liver functions in Egyptian patients with metabolic syndrome. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 94(4), 359-362. DOI: [10.1139/cjpp-2015-0371](https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0371)

Roca-Rivada, A., Castelao, C., Senin, L.L., Landrove, M.O., Baltar, J., Crujeiras, A.B., ... Pardo, M. (2013). FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PloS One*, 8(4), e60563. DOI: [10.1371/journal.pone.0060563](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060563)

Ross, R. (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 362, 801-809. DOI: [10.1038/362801a0](https://doi.org/10.1038/362801a0)

Roux, P.P., & Blenis, J. (2004). ERK and p38 MAPK-activated protein kinases: a family of protein kinases with diverse biological functions. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(2), 320-344. DOI: [10.1128/MMBR.68.2.320-344.2004](https://doi.org/10.1128/MMBR.68.2.320-344.2004)

Sah, V.P., Seasholtz, T.M., Sagi, S.A., & Brown, J.H. (2000). The role of rho in G protein-coupled receptor signal transduction. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 40, 459-489. DOI: [10.1146/annurev.pharmtox.40.1.459](https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.40.1.459)

- Sanchis-Gomar, F., Lippi, G., Mayero, S., Perez-Quilis, C., & García-Giménez, J.L. (2012). Irisin: a new potential hormonal target for the treatment of obesity and type 2 diabetes. *Journal of Diabetes*, 4(3), 196. DOI: [10.1111/j.1753-0407.2012.00194.x](https://doi.org/10.1111/j.1753-0407.2012.00194.x)
- Scheindlin, S. (2001). A brief history of pharmacology. *Modern Drug Discovery*, 4(5), 87-88.
- Schneider, J.C., El Kebir, D., Chereau, C., Mercier, J.C., Dall'Ava-Santucci, J., & Dinh-Xuan, A.T. (2002). Involvement of Na⁽⁺⁾/Ca⁽²⁺⁾ exchanger in endothelial NO production and endothelium-dependent relaxation. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 283(2), H837-H844. DOI: [10.1152/ajpheart.00789.2001](https://doi.org/10.1152/ajpheart.00789.2001)
- Schubert, R. (2005). Isolated vessels. In *Practical methods in cardiovascular research* (pp. 198-211). USA: Springer. DOI: [10.1007/b137833](https://doi.org/10.1007/b137833)
- Schumacher, M.A., Chinnam, N., Ohashi, T., Shah, R.S., & Erickson, H.P. (2013). The structure of irisin reveals a novel intersubunit β -sheet fibronectin type III (FNIII) dimer: implications for receptor activation. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(47), 33738-33744. DOI: [10.1074/jbc.M113.516641](https://doi.org/10.1074/jbc.M113.516641)
- Seyrek, M., Irkilata, H.C., Vural, I.M., Yildirim, I., Basal, S., Yildiz, O., & Dayanc, M. (2011). Testosterone relaxes human internal spermatic vein through potassium channel opening action. *Urology*, 78(1), 233.e1-233.e5. DOI: [10.1016/j.urology.2011.03.003](https://doi.org/10.1016/j.urology.2011.03.003)
- Shirai, A., & Saito, N. (2002). Activation mechanisms of protein kinase C: maturation, catalytic activation, and targeting. *Journal of Biochemistry*, 132(5), 663-668. DOI: [10.1093/oxfordjournals.jbchem.a003271](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a003271)
- Simionescu, N., & Simionescu, M. (1988). The cardiovascular system. In *Cell and tissue biology: a textbook of histology* (pp. 353-400). Baltimore: Urban & Schwarzenberg.
- Standen, N.B., & Quayle, J.M. (1998). K⁺ channel modulation in arterial smooth muscle. *Acta Physiologica Scandinavica*, 164(4), 549-557. DOI: [10.1046/j.1365-201X.1998.00433.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.1998.00433.x)
- Stary, H.C. (1990). The sequence of cell and matrix changes in atherosclerotic lesions of coronary arteries in the first forty years of life. *European Heart Journal*, 11, 3-19. DOI: [10.1093/eurheartj/11.suppl_e.3](https://doi.org/10.1093/eurheartj/11.suppl_e.3)
- Stefano, R., Massimiliano, C., Marina, C., Rossella, M., Chiara, P., Alessio, L., ... Federici, M. (2015). A score including ADAM17 substrates correlates to recurring cardiovascular event in subjects with atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 239(2), 459-464. DOI: [10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.029](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.029)
- Stengel, A., Hofmann, T., Goebel-Stengel, M., Elbelt, U., Kobelt, P., & Klapp, B.F. (2013). Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity: correlation with body mass index. *Peptides*, 39, 125-130. DOI: [10.1016/j.peptides.2012.11.014](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.11.014)

- Stocker, R., & Keaney, J.F. Jr. (2004). Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiological Reviews*, 84(4), 1381-1478. DOI: [10.1152/physrev.00047.2003](https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2003)
- Stott, J.B., Jepps, T.A., & Greenwood, I.A. (2014). K_(v)7 potassium channels: a new therapeutic target in smooth muscle disorders. *Drug Discovery Today*, 19(4), 413-424. DOI: [10.1016/j.drudis.2013.12.003](https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.12.003)
- Strasser, B. (2013). Physical activity in obesity and metabolic syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1281(1), 141-159. DOI: [10.1111/j.1749-6632.2012.06785.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06785.x)
- Tarhan, O. (2017). *Sıçan aortunda kasılma – gevşeme mekanizması üzerine klopidoğrelın etkileri* (Tez No. 458292) [Uzmanlık tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı]. Ulusal Tez Merkezi.
- Tavassoli, H., Heidarianpour, A., & Hedayati, M. (2019). The effects of resistance exercise training followed by de-training on irisin and some metabolic parameters in type 2 diabetic rat model. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 7, 1-8. DOI: [10.1080/13813455.2019.1673432](https://doi.org/10.1080/13813455.2019.1673432)
- Thyberg, J., Hedin, U., Sjölund, M., Palmberg, L., & Bottger, B.A. (1990). Regulation of differentiated properties and proliferation of arterial smooth muscle cells. *Arteriosclerosis*, 10(6), 966-990. DOI: [10.1161/01.atv.10.6.966](https://doi.org/10.1161/01.atv.10.6.966)
- Timmons, J.A., Baar, K., Davidsen, P.K., & Atherton, P.J. (2012). Is irisin a human exercise gene?. *Nature*, 488, 10. DOI: [10.1038/nature11364](https://doi.org/10.1038/nature11364)
- Touyz, R.M., Alves-Lopes, R., Rios, F.J., Camargo, L.L., Anagnostopoulou, A., Arner, A., & Montezano, A.C. (2018). Vascular smooth muscle contraction in hypertension. *Cardiovascular Research*, 114(4), 529-539. DOI: [10.1093/cvr/cvy023](https://doi.org/10.1093/cvr/cvy023)
- Tsuchiya, Y., Ando, D., Takamatsu, K., & Goto, K. (2015). Resistance exercise induces a greater irisin response than endurance exercise. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 64(9), 1042-1050. DOI: [10.1016/j.metabol.2015.05.010](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.05.010)
- Tuna, S. (2005). *Gemcitabine, vinorelbine, viox (rofecoxib) ve DMSO'nun C6 glial tümör hücre kültürlerinde hücre büyümesi üzerine etkileri* (Tez No. 165680) [Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü]. Ulusal Tez Merkezi.
- Turgut, N.H. (2007). *Suraminle oluşturulan sıçan preeklampsi modelinde damar düz kas cevaplarında oluşan değişiklikler üzerine fosfodiesteraz-5 inhibisyonunun etkisi* (Tez No. 203013) [Doktora tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü]. Ulusal Tez Merkezi.
- Ulusoy, K.G., Kaya, E., Karabacak, K., Seyrek, M., Duvan, İ., Yildirim, V., & Yildiz, O. (2017). Taurine relaxes human radial artery through potassium channel opening action. *The Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 21(6), 617-623. DOI: [10.4196/kjpp.2017.21.6.617](https://doi.org/10.4196/kjpp.2017.21.6.617)

- Vamvini, M.T., Aronis, K.N., Panagiotou, G., Huh, J.Y., Chamberland, J.P., Brinkoetter, M.T. ... Mantzoros, C.S. (2013). Irisin mRNA and circulating levels in relation to other myokines in healthy and morbidly obese humans. *European Journal of Endocrinology*, 169(6), 829-834. DOI: [10.1530/EJE-13-0276](https://doi.org/10.1530/EJE-13-0276)
- Vanhoutte, P.M. (1989). Endothelium and control of vascular function. State of the art lecture. *Hypertension*, 13, 658-667. DOI: [10.1161/01.hyp.13.6.658](https://doi.org/10.1161/01.hyp.13.6.658)
- Villarroya, F. (2012). Irisin, turning up the heat. *Cell Metabolism*, 15(3), 277-278. DOI: [10.1016/j.cmet.2012.02.010](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.02.010)
- Webb, R.C. (2003). Smooth muscle contraction and relaxation. *Advances in Physiology Education*, 27, 201-206. DOI: [10.1152/advan.00025.2003](https://doi.org/10.1152/advan.00025.2003)
- Werner, M.E., & Ledoux, J. (2014). K⁺ channels in biological processes: vascular K⁺ channels in the regulation of blood pressure. *Journal of Receptor, Ligand and Channel Research*, 7, 51-60. DOI: [10.2147/JRLCR.S36062](https://doi.org/10.2147/JRLCR.S36062)
- Xiang, L., Xiang, G., Yue, L., Zhang, J., & Zhao, L. (2014). Circulating irisin levels are positively associated with endothelium-dependent vasodilation in newly diagnosed type 2 diabetic patients without clinical angiopathy. *Atherosclerosis*, 235(2), 328-333. DOI: [10.1016/j.atherosclerosis.2014.04.036](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.04.036)
- Xu, B. (2013). BDNF (I)rising from exercise. *Cell Metabolism*, 18(5), 612-614. DOI: [10.1016/j.cmet.2013.10.008](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.10.008)
- Xu, H., Garver, H., Fernandes, R., Phelps, J.T., Harkema, J.J., Galligan, J.J., & Fink, G.D. (2015). BK channel β 1-subunit deficiency exacerbates vascular fibrosis and remodeling but does not promote hypertension in high fat fed obesity in mice. *Journal of Hypertension*, 33(8), 1611-1623. DOI: [10.1097/HJH.0000000000000590](https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000590)
- Yalçın, M.H. (2018). *Deneyisel diyabetik sıçan testis dokusunda irisin ve apoptozis üzerine vitamin D'nin etkilerinin incelenmesi* (Tez No. 522916) [Doktora tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü]. Ulusal Tez Merkezi.
- Yamada, K. (2016). Vascular potassium channels in NVC. *Progress in Brain Research*, 225, 63-73. DOI: [10.1016/bs.pbr.2016.01.001](https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2016.01.001)
- Ye, L., Xu, M., Hu, M., Zhang, H., Tan, X., Li, Q., ... Huang, J. (2017). TRPV4 is involved in irisin-induced endothelium-dependent vasodilation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(1), 41-45. DOI: [10.1016/j.bbrc.2017.10.160](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.160)
- Yildiz, O. (2007). Vasodilating mechanisms of levosimendan: involvement of K⁺ channels. *Journal of Pharmacological Sciences*, 104(1), 1-5. DOI: [10.1254/jphs.cp0060010](https://doi.org/10.1254/jphs.cp0060010)
- Yildiz, O., Nacitarhan, C., & Seyrek, M. (2006). Potassium channels in the vasodilating action of levosimendan on the human umbilical artery. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 13(4), 312-315. DOI: [10.1016/j.jsgi.2006.02.005](https://doi.org/10.1016/j.jsgi.2006.02.005)

- Zhang, W., Chang, L., Zhang, C., Zhang, R., Li, Z., Chai, B., ... Mulholland, M. (2015). Central and peripheral irisin differentially regulate blood pressure. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 29(2), 121-127. DOI: [10.1007/s10557-015-6580-y](https://doi.org/10.1007/s10557-015-6580-y)
- Zhang, Y., Li, R., Meng, Y., Li, S., Donelan, W., Zhao, Y., ... Tang, D. (2014). Irisin stimulates browning of white adipocytes through mitogenactivated protein kinase p38 MAP kinase and ERK MAP kinase signaling. *Diabetes*, 63(2), 514-525. DOI: [10.2337/db13-1106](https://doi.org/10.2337/db13-1106)
- Zhang, Y., Zhang, L., Wang, F., Zhang, Y., Wang, J., Qin, Z., ... Tao, J. (2011). Activation of M3 muscarinic receptors inhibits T-type Ca²⁺ channel currents via pertussis toxin-sensitive novel protein kinase C pathway in small dorsal root ganglion neurons. *Cellular Signalling*, 23(6), 1057-1067. DOI: [10.1016/j.cellsig.2011.02.001](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.02.001)
- Zhao, J., Su, Z., Qu, C., & Dong, Y. (2017). Effects of 12 weeks resistance training on serum irisin in older male adults. *Frontiers in Physiology*, 8, 171. DOI: [10.3389/fphys.2017.00171](https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00171)
- Zhong, Y-S., Wang, J., Liu, W-M., & Zhu, Y-H. (2013). Potassium ion channels in retinal ganglion cells (review). *Molecular Medicine Reports*, 8(2), 311-319. DOI: [10.3892/mmr.2013.1508](https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1508)
- Zierler, R.E. (1994). Normal arterial physiology. In D.E. Strandness, & A. Van Breda (Eds.), *Vascular diseases: surgical and interventional therapy* (pp. 57-64). New York: Churchill Livingstone.

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

ACPA	Araşidonilsiklopropilamid
Akt	Protein kinaz B
AMPK	5'-AMP ile aktive olan protein kinaz
Ang II	Anjiyotensin II
α PKC	Atipik PKC
BIM I	Bisindolilmaleimid I
BK _{Ca}	Büyük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları
BUÜ DEHYUAM	Bursa Uludağ Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi
BUÜ HADYEK	Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneysel Yönel Etik Kurulu
Ca ²⁺ /Mg ²⁺ -ATPaz	Kalsiyum/Magnezyum-ATPaz
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
cGMP	Guanozin 3', 5'-siklik fosfat
cPKC	Konvansiyonel PKC
DAG	Diaçilgliserol
DMSO	Dimetil sülfoksit
eNOS	Endotelyal NO sentaz
ERK	Ekstrasellüler sinyalle düzenlenen kinaz
ERK1/2	MAPK
ET-1	Endotelin-1
FNDC5	<i>Fibronectin type III domain containing protein 5</i> ; fibronektin tip III domain içeren protein 5
FNIII	Fibronektin III
FRCP2	Fibronektin tip III tekrarlarını içeren protein 2
FRCP2/PeP	FNDC5
G proteini	Membrana bağlı guanin nükleotit düzenleyici protein
HO-1	Hem oksijenaz-1

IK _{Ca}	Orta kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları
INDO	İndometazin
IP ₃	İnozitol-1,4,5-trifosfat
JNK	<i>c-Jun N-terminal kinase</i>
K _{2P}	İki porlu K ⁺ kanalları
K _{ATP}	ATP'ye duyarlı potasyum kanalları
K _{Ca}	Kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları
K _{ir}	İçeri doğrultucu K ⁺ kanalları
K _v	Voltaja duyarlı potasyum kanalları
LC20	<i>20 kDa Light Chain</i> ; 20 kDa'luk miyozin hafif zinciri
L-NAME	N omega-Nitro-L-arjinin metil ester
MAP Kinaz	Mitojenle aktive edilen protein kinaz
MAPK	MAP Kinaz
MAPKK	MAP Kinaz Kinaz
MAPKKK	MAP Kinaz Kinaz Kinaz
MEK1/2	Mitojenle aktive edilen protein kinaz kinaz; MAPKK; MAP/ERK Kinaz
MHZK	Miyozin hafif zincir kinaz
Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz	Sodyum/Potasyum-ATPaz
NO	Nitrik oksit
nPKC	Yeni PKC
ODQ	1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one
p38 MAPK	p38 mitojenle aktive edilen protein kinaz
PCOS	<i>Polycystic ovary syndrome</i> ; polikistik over sendromu
PeP	Peroksizomal protein
PGC1- α	PPAR- γ koaktivatörü 1- α
PGF2 α	Prostaglandin F2 alfa
PGI ₂	Prostasiklin
PHE	Fenilefrin

PIP ₂	Fosfotidil inozitol-4,5-bifosfat
PKA	Protein kinaz A
PKC	Protein kinaz C
PKG	Protein kinaz G
PPAR- γ	Peroksisom proliferatör ile aktive edilen reseptör- γ
PVAT	<i>Perivascular adipose tissue</i> ; perivasküler adipoz doku
Raf	<i>Rapidly accelerated fibrosarcoma</i> ; MAPKKK; MEK Kinaz
Ras	<i>Rat sarcoma</i>
RhoGEF	Guanin nükleotit değişim faktörü
ROC	<i>Receptor-operated channel</i> ; reseptör-bağımlı kanal
RT-PCR	<i>Reverse transcription-polymerase chain reaction</i>
RyRs	Riyanodin reseptörleri
SS	Standart sapma
SK _{Ca}	Küçük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları
SOC	<i>Store-operated channel</i> ; depo-aracılı kanal
TEA	Tetraetil amonyum
TRP	Transient reseptör potansiyel
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
TXA ₂	Tromboksan A2
VDCCs	<i>Voltage-dependent calcium channels</i> ; voltaj-bağımlı kalsiyum kanalları
VDKH	Vasküler düz kas hücreleri
VOC	<i>Voltage-operated channel</i> ; voltaj-bağımlı kanal
WKY	Wistar-Kyoto

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
Görükle Yerleşkesi, 16059 Nilüfer/ BURSA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	<i>Irisin'in İletim Tipi Arterlerdeki Fonksiyonel Etkileri ve Olası Etki Mekanizmalarının İzole Organ Banyosu Modelinde Araştırılması</i>
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Prof. Dr. Fadıl ÖZYENER BUÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji AD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Arş. Gör. Sadettin DEMİREL Prof. Dr. Naciye İŞBİL Arş. Gör. Dr. Serdar ŞAHİNTÜRK
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Sadettin DEMİREL'in Doktora Tez Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	01.09.2019 – 01.09.2021
	KULLANILACAK HAYVAN TURU VE SAYISI	96 Adet Erkek Sıçan

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarih
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	01.04.2019

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2019 - 04 / 10	Tarih : 03.04.2019
	<p>Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmacıya iletilmesine oy birliği/oy çokluğu ile karar verildi.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılarda değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması, 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi, 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması, 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi. 	

ETİK KURUL BİLGİLERİ**ÜYELER**

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza		Düşünceler
				Kabul	Ret	
Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK Başkan	Tıp- Fizyoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Levent BÜYÜKUYUSAL Başkan Yardımcısı	Tıp- Farmakoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Erdoğan ŞENDEMİR Üye	Tıp - Anatomi	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. M. Müfit KAHRAMAN Üye	Vet- Patoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Ayşe TOPAL Üye	Vet- Cerrahi	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Aydın İPEK Üye	Ziraat- Zootekni	Ziraat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Sibel TAŞ Üye	Fen Edebiyat - Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Sema ÖZKAN Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Makine Mühendisi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Taner GÜLER Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Ziraat Yüksek Mühendisi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Faruk KUÇUKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DEHYUAM	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			

9. TEŞEKKÜR

219S306 No.lu projemizi 1002-Hızlı Destek programı kapsamında destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) Sağlık Bilimleri Araştırma Destek Grubu'na, değerli hocam emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK'e, Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Naciye İŞBİL hocama, bu tezin hazırlanmasında her açıdan yol gösteren ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Fadıl ÖZYENER'e, tez çalışmama değerli katkıları ile yardımcı olan Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim elemanı Arş. Gör. Dr. Serdar ŞAHİNTÜRK'e, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi ve çalışanlarına desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

10. ÖZGEÇMİŞ

25 Nisan 1984'te Elazığ'da doğmuştur. Babasının memuriyeti nedeniyle Şanlıurfa'nın Siverek ilçesinde başladığı ilköğrenimini Bursa Peyami Safa İlköğretim Okulu'nda tamamlamıştır. Eğitimini Bursa Ulubatlı Hasan Anadolu Lisesi'nde sürdürmüştür. Ortaöğretimi bitirdiği yıl Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne kayıtlanarak 2009 yılında buradan mezun olmuştur. Lisans eğitimi sonrasında ise, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programına kayıtlanmıştır. 2012 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne'ne Araştırma Görevlisi olarak atanmıştır. Buradaki görevine devam ederken, 2013 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'na ÖYP kapsamında Araştırma Görevlisi olarak atanmaya hak kazanmış ve Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp-Fizyoloji yüksek lisans programına kayıtlanmıştır. 27 Temmuz 2016'da Tıp-Fizyoloji yüksek lisans programından mezun olmuş ve 11 Ağustos 2016'da Tıp-Fizyoloji doktora programına kayıtlanmıştır.