



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



**ENDOJEN APELİN RESEPTÖR LİGANDLARININ
VASKÜLER KONTRAKTİLİTEYE ETKİSİ VE OLASI ETKİ
MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI**

SERDAR ŞAHİNTÜRK
ORCID ID: 0000-0002-7612-0055

(DOKTORA TEZİ)

BURSA-2021





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



**ENDOJEN APELİN RESEPTÖR LİGANDLARININ
VASKÜLER KONTRAKTİLİTEYE ETKİSİ VE OLASI ETKİ
MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI**

Serdar ŞAHİNTÜRK
ORCID ID: 0000-0002-7612-0055

(DOKTORA TEZİ)

DANIŞMAN:
Prof. Dr. Naciye İŞBİL

119S971-TÜBİTAK

BURSA-2021

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum “Endojen Apelin Reseptör Ligandlarının Vasküler Kontraktiliteye Etkisi ve Olası Etki Mekanizmalarının Araştırılması” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden olduğunu belirtir ve beyan ederim.

Serdar şAHİNTÜRK
10.02.2021

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYAN.....	II
KABUL ONAY.....	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
TÜRKÇE ÖZET.....	VII
İNGİLİZCE ÖZET.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Apelinerjik Sistem.....	3
2.1.1. APJ.....	3
2.1.2. Apelin.....	5
2.1.3. Elabela.....	6
2.2. Apelin ve Vasküler Kontraktilite.....	7
2.3. Elabela ve Vasküler Kontraktilite.....	13
2.4. Damar Duvarının Yapısı ve Vasküler Düz Kas.....	15
2.5. eNOS/NO Yolağı ve Vasküler Tonus.....	17
2.6. MAPK Yolağı ve Vasküler Tonus.....	19
2.7. Prostanoidler ve Vasküler Tonus.....	20
2.8. AMPK Yolağı ve Vasküler Tonus.....	22
2.9. Potasyum Kanalları ve Vasküler Tonus.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Genel Bilgiler.....	29
3.2. İzole Organ Banyosu Yöntemi.....	29
3.3. İzole Organ Banyosu Deneyleri.....	30
3.4. Deney Grupları.....	32
3.4.1. Apelin ile İlişkili Gruplar.....	32
3.4.2. Elabela İle İlişkili Gruplar.....	33
3.5. İlaçlar.....	34
3.6. Krebs Çözültisi.....	35
3.7. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	37
4.1. Apelinin Sıçan Torasik Aort Gerimine Etkisi.....	37
4.2. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında APJ'nin Rolü.....	38
4.3. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında eNOS/NO Yolağının Rolü.....	39
4.4. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında MAPK Yolağının Rolü.....	40
4.5. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında COX Yolağının Rolü.....	41
4.6. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında AMPK Yolağının Rolü.....	42
4.7. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında Potasyum Kanallarının Rolü.....	43
4.8. Elabelanın Sıçan Torasik Aort Gerimine Etkisi.....	44
4.9. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında APJ'nin Rolü.....	45
4.10. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında eNOS/NO Yolağının Rolü.....	46
4.11. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında MAPK Yolağının Rolü.....	47
4.12. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında COX Yolağının Rolü.....	48

4.13. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında AMPK Yolağının Rolü..	49
4.14. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında Potasyum Kanallarının Rolü.....	50
4.15. Apelin ve Elabelanın Vazodilatatör Etkinliklerinin Karşılaştırılması.....	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	52
6. KAYNAKLAR.....	63
7. SİMGELER VE KISALTMALAR.....	79
8. EKLER.....	82
9. TEŞEKKÜR.....	83
10. ÖZGEÇMİŞ.....	84

TÜRKÇE ÖZET

Apelinerjik sistem kardiyovasküler etkileri nedeniyle oldukça önemli olup, dünya çapında yaygın morbidite ve mortalite sebebi olan kardiyovasküler hastalıklarda yüksek tedavi potansiyeli taşımaktadır. Bu çalışmada apelinerjik sistem elemanları olan apelin ve elabelanın vasküler kontraktilite üzerindeki etkileri ve etki mekanizmaları araştırılmıştır.

Erkek *Wistar Albino* sıçanların torasik aortlarından elde edilen damar halkaları izole organ banyosu sistemine yerleştirilmiştir. Dengelenme periyodu sonrasında fenilefrin ile kasılan damarlara plato fazında *pyroglutamyl* apelin-13 ([Pyr1]apelin-13) veya elabela-32 (Ela-32) kümülatif olarak uygulanarak damar gerimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Etki mekanizmalarını ortaya koymak amacı ile spesifik yolak inhibitörleri varlığında belirtilen protokol tekrarlanmıştır. Bu amaçla apelin reseptörü (APJ), endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS), AMP ile aktiflenen protein kinaz (AMPK), siklooksijenaz (COX), mitojenle aktiflenen protein kinaz (MAPK) ve potasyum kanal inhibitörleri kullanılmıştır.

[Pyr1]apelin-13 fenilefrin ile ön kasılma uygulanmış sıçan torasik aortunda doz bağımlı olarak gevsemeye neden olmuştur. Ela-32 de benzer şekilde doz bağımlı vazodilatatör etki göstermiştir. Her iki etken maddenin de ortak reseptörleri olan APJ aracılığı ile vazodilatatör etki gösterdiği gözlenmiştir. [Pyr1]apelin-13'ün vazodilatatör etkisinde nitrik oksit (NO), AMPK, prostanooidler ve potasyum kanallarının rol oynadığı belirlenmiştir. Ela-32'nin vazodilatatör etkisine AMPK, prostanooidler ve potasyum kanallarının katıldığı gösterilmiştir. Ela-32'nin sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etki düzeyinin [Pyr1]apelin-13'e kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada apelinerjik sistemin vazodilatatör etkinliğinde APJ, NO, AMPK, prostanooidler ve potasyum kanal aktivasyonunun rol oynadığı belirlenmiştir. Ela-32'nin [Pyr1]apelin-13'ten daha yüksek seviyede vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiştir. Belirgin vazodilatatör etkileri nedeni ile apelinerjik sistem elemanlarının hipertansif hastalıklarda önemli bir tedavi alternatifi olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: apelin, elabela, NO, potasyum kanalı, vazodilatasyon

İNGİLİZCE ÖZET

EFFECT OF ENDOGENOUS APELIN RECEPTOR LIGANDS ON VASCULAR CONTRACTILITY AND INVESTIGATION OF POSSIBLE EFFECT MECHANISMS

The apelinergic system is very important due to its cardiovascular effects, and it has a high treatment potential in cardiovascular diseases, which are common causes of morbidity and mortality worldwide. In this study, the effects of apelin and elabela, which are the components of the apelinergic system, on vascular contractility and their mechanisms of action were investigated.

Vascular rings obtained from the thoracic aorta of the male *Wistar Albino* rats were placed in an isolated organ bath system. After the equilibration period, pyroglutamyl apelin-13 ([Pyr1]apelin-13) or elabela-32 (Ela-32) was applied cumulatively to the vessels pre-contracted with phenylephrine in the plateau phase to investigate the effects on vascular tension. The protocol was repeated in the presence of specific pathway inhibitors to demonstrate their mechanism of action. For this purpose, apelin receptor (APJ), endothelial nitric oxide synthase (eNOS), AMP-activated protein kinase (AMPK), cyclooxygenase (COX), mitogen-activated protein kinase (MAPK), and potassium channel inhibitors were used.

[Pyr1]apelin-13 induced a dose-dependent relaxation in the thoracic aorta of the rat pre-contracted with phenylephrine. Ela-32 also showed a dose-dependent vasodilator effect. It has been observed that both active ingredients act as a vasodilator through their common receptor, APJ. It has been determined that nitric oxide (NO), AMPK, prostanoids, and potassium channels play a role in the vasodilator effect of [Pyr1]apelin-13. It has been shown that AMPK, prostanoids, and potassium channels participate in the vasodilator effect of Ela-32. The vasodilator effect level of Ela-32 in rat thoracic aorta was found to be higher than [Pyr1]apelin-13.

In conclusion, it was determined that APJ, NO, AMPK, prostanoids, and potassium channel activation play a role in the vasodilator activity of the apelinergic system. Ela-32 has been shown to cause a higher level of vasodilation than [Pyr1]apelin-13. It is thought that apelinergic system elements may be an important treatment alternative in hypertensive diseases due to their prominent vasodilator effects.

Keywords: apelin, elabela, NO, potassium channel, vasodilation

1. GİRİŞ

Apelin reseptörü (APJ), endojen APJ ligandları ve reseptör sonrası yollardan oluşan apelinerjik sistem birçok fizyolojik süreçte rol almaktadır. Vücut-sıvı düzenlemesi, enerji metabolizması, besin alımı, nöroendokrin stres cevabı ve bağışıklık cevapları apelinerjik sistemin dahil olduğu başlıca süreçlerdir. Bununla birlikte apelinerjik sistemin kardiyovasküler fizyolojik süreçlerdeki rolü oldukça belirgindir. Apelinerjik sistem pozitif inotropik, antihipertansif ve kardiyoprotektif etkilere aracılık etmektedir. Kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir rolü olan apelinerjik sistemin vasküler kontraktilite üzerindeki etkileri ise değişkenlik göstermektedir. Fizyolojik koşullarda genellikle vazodilatatör etki gösteren apelinerjik sistemin damar endotelinin hasarlandığı ya da fonksiyonel olmadığı durumlarda vazokonstriktör etki gösterebildiği ileri sürülmektedir (Mughal, & O'Rourke, 2018; O'Carroll, Lolait, Harris, & Pope, 2013; Shin, Kenward, & Rainey, 2017; Xu, Chen, Jiang, & Li, 2018; Yamaleyeva, Shaltout, & Varagic, 2016; Zhang et al., 2018).

Bilinen iki endojen APJ ligandı apelin (*APJ endogenous ligand*) ve elabela (*APJ early endogenous ligand*, Apela, Toddler, Ela)'dır. Apelin ve elabelanın çeşitli izoformları bulunmaktadır. Bununla birlikte plazma ve kardiyovasküler dokulardaki baskın apelin izoformu *pyroglutamyl* apelin-13 ([Pyr1]apelin-13)'tür. Elabela-32 (Ela-32) ise elabelanın olgun izoformudur (Zhang et al., 2018). Farklı apelin izoformlarının kullanıldığı *in vitro* vasküler kontraktilite çalışmalarında genellikle vazodilatatör etki bildirilmiştir (Mughal, Sun, & O'Rourke 2018a; Wang et al., 2015). Bazı çalışmalarda ise vazokonstriktör etki gözlenmiştir (Katugampola, Maguire, Matthewson, & Davenport, 2001; Maguire, Kleinz, Pitkin, & Davenport, 2009). [Pyr1]apelin-13 ile yapılmış çok az *in vitro* vasküler kontraktilite çalışması vardır. Ayrıca [Pyr1]apelin-13'ün sıçan torasik aort gerimi üzerindeki etkisine ve etki

mekanizmasına dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ela-32 ile ilgili ise sadece birkaç *in vitro* vasküler kontraktilite çalışması bulunmaktadır. Bu çalışmalarda vazodilatör etki bildirilmiştir (Perjés et al., 2016; Wang et al., 2015). Ela-32'nin de sıçan torasik aort gerimine etkisi ve etki mekanizması ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Burada sunmuş olduğumuz çalışmamızda endojen APJ ligandları olan apelin ve elabelanın sıçan torasik aort kontraktilitesi üzerindeki etkilerinin ve etki mekanizmalarının izole organ banyosu yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır. Plazma ve kardiyovasküler dokudaki baskın apelin izoformu olması nedeni ile [Pyr1]apelin-13 kullanılan çalışmamızda elabelanın uygun izoformu olmasından dolayı Ela-32 kullanılmıştır. Apelin ve elabelanın vasküler kontraktilite üzerindeki etkilerine aracılık eden mekanizmaların belirlenmesi amacıyla apelinergic sistem kaynaklı vazodilatasyonda rolü olabileceği ileri sürülen APJ, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS)/nitrik oksit (NO), mitojen ile aktive edilen protein kinaz (MAPK), siklooksijenaz (COX) ve adenosin monofosfat ile aktive edilen protein kinaz (AMPK) yolları ile potasyum kanallarının olası rolü sorgulanmıştır. Bununla birlikte çalışmamızda her iki etken maddenin vasküler gerim üzerindeki etki mekanizmaları ve etki düzeyleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın hipertansiyon ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklarda yeni ve alternatif tedavi ajanları olabileceği düşünülen endojen APJ ligandlarının vasküler fonksiyonlar üzerindeki etkilerinin ve etki mekanizmalarının aydınlatılmasına katkıda bulunacağını, apelinergic sistem tabanlı tedavilerin uygulandığı klinik çalışmalardaki olası bulgular hakkında fikir vereceğini ve literatüre katkıda bulunarak daha sonraki çalışmalara yardımcı olacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Apelinerjik Sistem

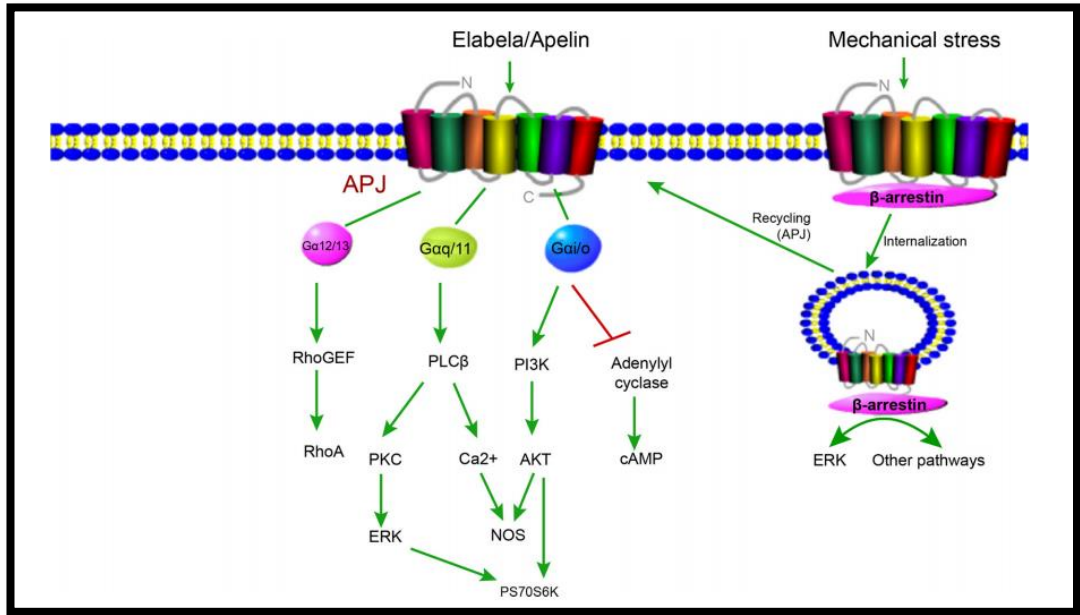
Apelinerjik sistem APJ ile bu reseptörün endojen ligandları olan apelin ve elabeladan oluşan bir sistemdir. Kardiyovasküler düzenleme, vücut-sıvı homeostazı, enerji metabolizması, anjiyogenez, besin alımı ve nöroendokrin stres cevabı gibi birçok fizyolojik süreçte görev almaktadır (Shin et al., 2017; Xu et al., 2018; Zhang et al., 2018).

Apelinerjik sistemin kardiyovasküler fizyolojik süreçlerde önemli görevleri bulunmaktadır. Hem pozitif inotropik etkisi olduğu hem de kardiyoprotektif etki gösterdiği ileri sürülmektedir. Bununla beraber apelinerjik sistem vasküler kontraktilite ve arteryel kan basıncının düzenlenmesinde de önemlidir (Kuba, Sato, Imai, & Yamaguchi, 2019; O'Carroll et al., 2013; Shin et al., 2017; Xu et al., 2018; Zhang et al., 2018). Pozitif inotropik, vazodilatatör ve antihipertansif etkileri olan apelinerjik analoglar ve APJ agonistlerinin kalp yetmezliği, esansiyel hipertansiyon ve pulmoner arteryel hipertansiyon gibi birçok yaygın kardiyovasküler hastalıkta tedavi potansiyeli taşıdığı düşünülmektedir (Kuba et al., 2019; Marsault et al., 2019; Wysocka, Pietraszek-Gremplewicz, & Nowak, 2018; Yamaleyeva et al., 2016).

2.1.1. APJ

G protein kenetli bir reseptör olan APJ 1993 yılında keşfedilmiştir. Önceleri ligandı bilinmediği için *orphan* reseptör olarak tanımlanmış ve 1998 yılında apelinin keşfine kadar bu durum böyle devam etmiştir. APJ'yi kodlayan APLNR geni 11. kromozom üzerinde yer almaktadır (O'Dowd et al., 1993). 380 amino asitten oluşan APJ, 7 transmembran bölgesine sahiptir. APJ'nin amino asit sekansı insan, sıçan ve fare gibi çeşitli türler arasında oldukça korunmuştur (Hosoya et al., 2000). APJ anjiyotensin II (Ang II) tip 1A reseptörü (AT1A) ile önemli bir sekans homolojisine

sahiptir (%31). Bu homoloji oranı transmembran bölgesinde oldukça yüksektir (%54). Bu 2 reseptörün doku dağılımı da oldukça benzerdir. Bu benzerliğe karşın apelin AT1A reseptörüne bağlanmamaktadır. Yine aynı şekilde Ang II de APJ'ye bağlanmamaktadır (Xu et al., 2018). APJ vücut dokularında yaygın bir ekspresyona sahiptir. Kardiyovasküler sistemde kardiyomiyositlerde, vasküler endotelial hücrelerde ve vasküler düz kas hücrelerinde APJ ekspresyonu görülmektedir (Kleinz, & Davenport, 2005).



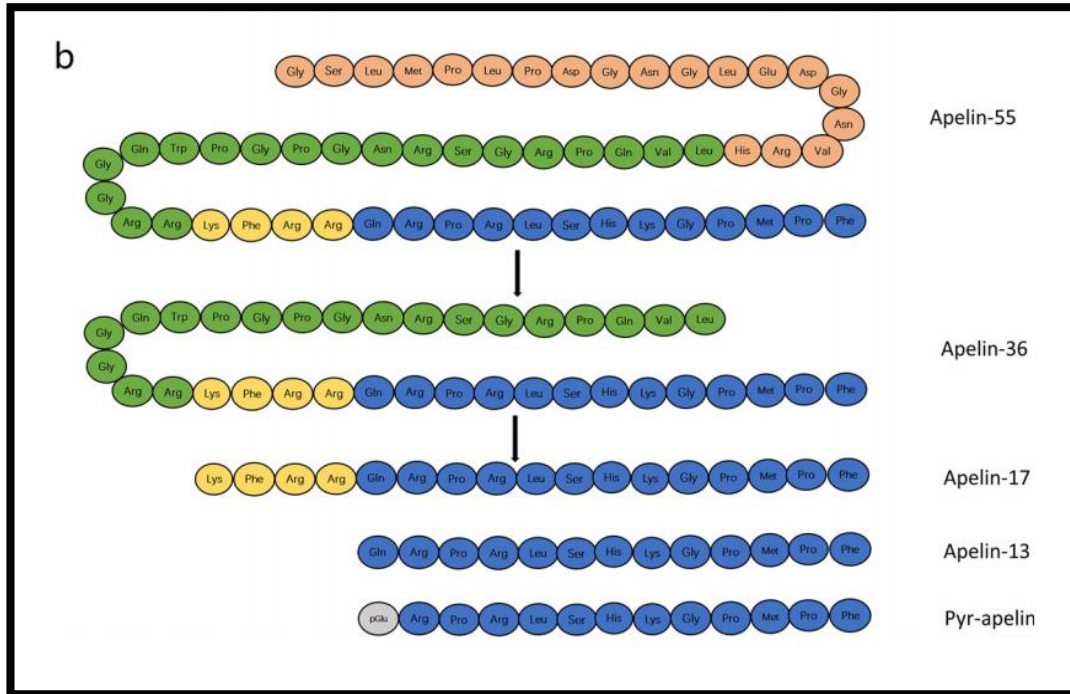
Şekil 1: Apelinerjik sistemin sinyal yolları (Zhang et al., 2018). AKT: protein kinaz B, APJ: apelin reseptörü, cAMP: siklik adenozin monofosfat, ERK: ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz, GEF: guanin nükleotid değiştirici faktör, NOS: nitrik oksit sentaz, PI3K: fosfatidilinositol 3-kinaz, PKC: protein kinaz C, PLC: fosfolipaz C

APJ sonrası etkiler çeşitli G proteinlerinin aktifleşmesiyle gerçekleşmektedir. Gai/o, Gaq11 and Ga12/13 gibi G proteinleri bunlardan bazılarıdır. G proteinleri sonrasında fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/Akt/eNOS ve fosfolipaz C (PLC)/protein kinaz C (PKC) gibi yollar aktifleşerek siklik adenozin monofosfat (cAMP) üretiminin supresyonu, ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK) aktivasyonu, eNOS aktivasyonu ve kalsiyum mobilizasyonu gibi etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Miyokard kontraktilesinin artışında özellikle MAPK kinaz (MEK)/ERK yolağının ve PLC aktivasyonunun önemli olduğu ileri sürülmektedir. Bununla birlikte PI3K/Akt/eNOS yolağının ise vasküler fonksiyonel etkilerde çok önemli

olduğu düşünülmektedir (Şekil 1) (Kuba et al., 2019; Perjés et al., 2014; Zhang et al., 2018).

2.1.2. Apelin

Apelin ilk bulunan endojen APJ ligandıdır. 1998 yılında sığır mide dokusundan izole edilmiştir (Tatemoto et al., 1998). Apelini kodlayan APLN geni X kromozomu üzerinde q25-26.1 bandında yer almaktadır (Lee et al., 2000). Apelinin apelin-12, apelin-13, [Pyr1]apelin-13, apelin-17 ve apelin-36 gibi çeşitli izoformları bulunmaktadır (Şekil 2). Bu izoformlar 77 amino asitli prekürsör protein olan preproapelininden oluşturulmaktadır. [Pyr1]apelin-13, apelin-13'ten posttranslasyonel modifikasyonla oluşturulmaktadır ve enzimatik yıkıma oldukça dirençli olan stabil bir formdur. Apelinin C-terminal 12 amino asidi bu peptidin reseptöre bağlanması için gerekli olduğundan 12 amino asitten daha kısa fragmanların biyolojik olarak inaktif olduğu ileri sürülmektedir. Apelinin sağlıklı insan plazmasındaki konsantrasyonu 0.26 ± 0.03 nmol/l olarak ölçülmüştür (Yang et al., 2017; Zhang et al., 2018).



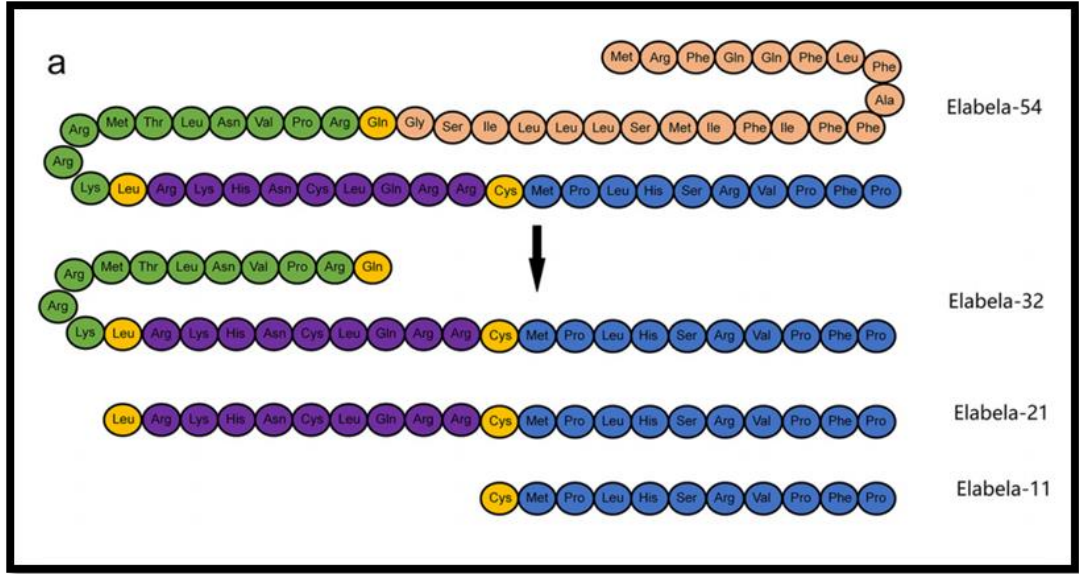
Şekil 2: Apelin izoformları (Zhang et al., 2018). Pyr-apelin: [Pyr1]apelin-13

Apelin kalp, beyin, mide, akciğer, karaciğer, barsak, böbrek, iskelet kası, yağ doku ve vasküler endotelde yoğun olarak eksprese edilmektedir (O'Carroll et al., 2013; Shin et al., 2017; Zhang et al., 2018). Doku dağılımları ve etki güçleri apelin izoformları arasında farklılık gösterebilmektedir. [Pyr1]apelin-13 insan plazma ve kalp dokusundaki baskın apelin izoformudur. [Pyr1]apelin-13'ün plazma konsantrasyonunun 7.7-23.3 pg/ml olduğu gösterilmiştir. Apelin izoformları arasında [Pyr1]apelin-13 ve apelin-13'ün kardiyovasküler etkiler açısından daha güçlü olduğu ileri sürülmektedir (Maguire et al., 2009; Zhang et al., 2018; Zhen, Higgs, & Gutierrez, 2013). Neprilysin ve anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE 2) apelinin enzimatik yıkımında görev almaktadır (Marsault et al., 2019). Apelinin plazma yarılanma ömrünün çok kısa olduğu belirlenmiştir. Birkaç dakika olarak ifade edilen bu sürenin apelin-13 ve apelin-36 için 8 dakikayı geçmediği bildirilmiştir (Folino, Montarolo, Samaja, & Rastaldo, 2015; Japp et al., 2008; Zhang et al., 2018).

Apelin arteriyel kan basıncı, kardiyovasküler kontraktile, anjiyogenez, vücut-sıvı homeostazı, enerji metabolizması ile gastrointestinal motilite ve sekresyon gibi süreçlerde düzenleyici role sahiptir. Bununla birlikte kalp yetmezliği, obezite, diyabet ve kanser gibi yaygın morbidite ve mortalite nedeni olan patolojik durumlarda da apelinin rolü olduğu ileri sürülmektedir (O'Carroll et al., 2013; Shin et al., 2017; Zhang et al., 2018).

2.1.3. Elabela

Elabela apeline göre daha sonra bulunmuş olan endojen APJ ligandıdır. 2 ayrı araştırma grubu tarafından eş zamanlı olarak keşfedilmiştir (Chng, Ho, Tian, & Reversade, 2013; Pauli et al., 2014). Elabela'yı kodlayan APELA geni insanda 4. kromozom üzerinde bulunmaktadır. Elabela izoformları 54 amino asit içeren prekürsör peptidden oluşturulmaktadır. Bunlar elabelanın olgun formu olan Ela-32 ile Ela-11 ve Ela-21'dir (Şekil 3). Elabelanın sağlıklı insan plazmasındaki konsantrasyonu 0.34 ± 0.03 nmol/l olarak ölçülmüş ve apelin düzeyinden anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Apelin gibi elabelanın da plazma yarılanma ömrünün oldukça kısa olup birkaç dakikayı geçmediği ileri sürülmektedir (Yang et al., 2017; Zhang et al., 2018).



Şekil 3: Elabela izoformları (Zhang et al., 2018).

Elabela normal kalp gelişimi ve anjiyenez için gereklidir. Vücut dokularında yaygın olarak eksprese edilen bu peptid apeline benzer şekilde vazodilatatör ve pozitif inotropik etki göstermektedir (Wang et al., 2015; Xu et al., 2018; Zhang et al., 2018). Elabelanın pozitif inotropik etkisinde ERK 1-2 aktivasyonunun rol oynadığı gösterilmiştir (Perjés et al., 2016). Apelin ve elabelanın birlikte çalışarak renin-angiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS)'ni antagonize ettikleri ileri sürülmektedir. Bu şekilde apelinerjik sistemin kardiyak hipertrofi ve fibrozis gibi patolojik durumları önlediği düşünülmektedir (Chun et al., 2008; Sato et al., 2017).

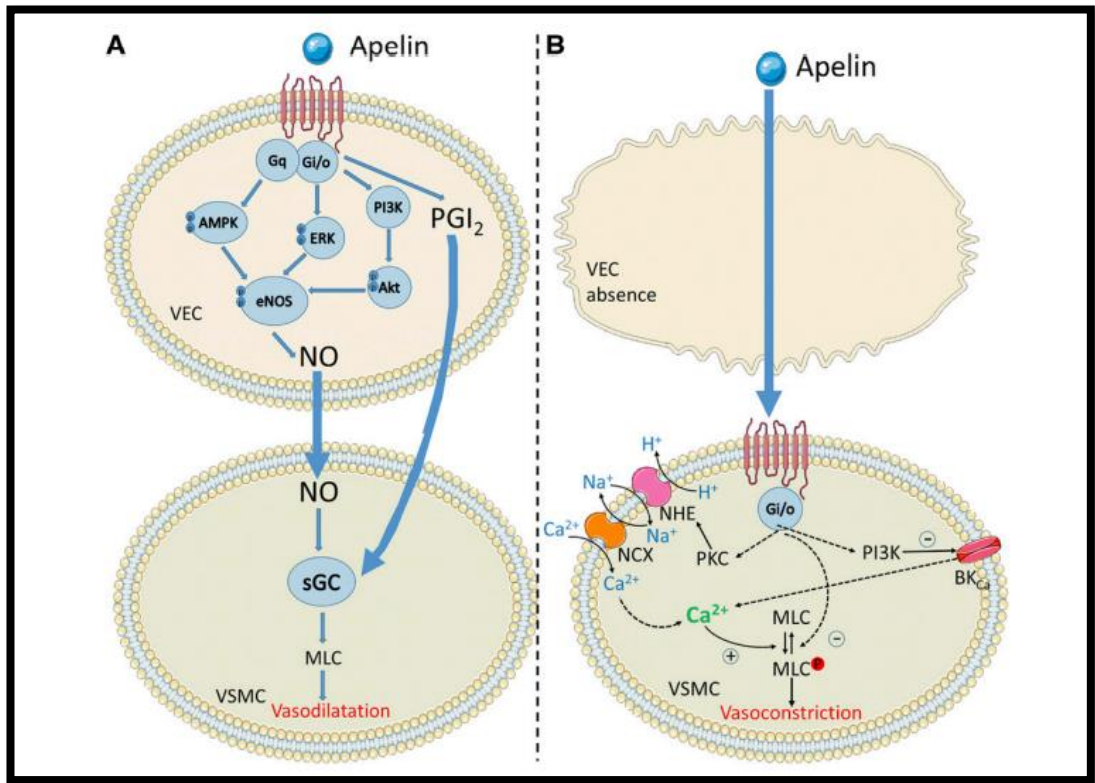
2.2. Apelin ve Vasküler Kontraktilite

Apelin vasküler fonksiyonları hem vazodilatasyon hem de vazokonstriksiyon yönünde etkileyebilmektedir. Bu etkinin esas olarak vasküler endotelin fonksiyonel olup olmaması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Apelin ile uyarılmış vazodilatatör etki birçok türde ve birçok damar yatağında gösterilmiştir (Japp et al., 2008; Mughal et al., 2018a; Salcedo et al., 2007; Wang et al., 2015). Sıçan portal veni kullanılan bir çalışmada apelin-13'ün bazal damar tonusunu etkilemediği ancak Ang II ile uyarılmış vazokonstriksiyonu NO aracılı olarak engellediği bildirilmiştir (Gurzu, Petrescu, Costuleanu, & Petrescu, 2006). Apelin-13'ün U46619 ile kasılmış insan mezenterik arter ve hepatik arterlerinde gevşemeye neden olduğu rapor edilmiştir.

Mezenterik arterdeki apelin-13 aracılı vazodilatatör etkide NO'nun rolü olduğu ancak prostanoidlerin rol oynamadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte hepatic arterdeki vazodilatatör etkide NO'nun rol oynamadığı belirlenmiştir (Salcedo et al., 2007). İnsanlar üzerinde yapılan *in vivo* bir çalışmada [Pyr1]apelin-13 veya apelin-36 infüzyonunun ön kol arterlerinde vazodilatasyona neden olduğu ancak venöz tonusu etkilemediği gözlenmiştir. [Pyr1]apelin-13 kaynaklı vazodilatatör etkide prostanoidlerin rolü olmadığı ancak NO'nun rol oynadığı gösterilmiştir (Japp et al., 2008). [Pyr1]apelin-13, apelin-13 ve apelin-36'nın koroner arter hastalarından elde edilen ve endotelin-1 (ET-1) ile ön kasılmaya tabi tutulan insan internal torasik arterinde gevşemeye neden olduğu bildirilmiştir. İnternal torasik arterdeki [Pyr1]apelin-13 aracılı vazodilatasyonda NO'nun rolü olmadığı gözlenirken bu etkinin endotel bağımlı ve prostanoid aracılı olarak meydana geldiği rapor edilmiştir (Maguire et al., 2009). Apelin-13'ün normoksik sıçanların pulmoner arterinde ET-1 ve Ang II ile uyarılan kasılmayı inhibe ettiği belirlenen çalışmada kronik hipoksik sıçanlarda apelinin vazodilatatör etkisinin azaldığı gösterilmiştir (Andersen, Markvardsen, Hilberg, & Simonsen, 2009). Norepinefrin (NE) ile ön kasılma uygulanmış sıçan pulmoner arterinde apelinin endotel bağımlı ve NO aracılı olarak gevşetici etki oluşturduğu bildirilmiş olup apelinin gevşetici etkisinin hipoksik sıçanlarda azaldığı belirlenmiştir (Huang et al., 2011). U46619 ile kasılmış fare aortunda apelin-13'ün endotel bağımlı olarak gevşetici etki gösterdiği bildirilmiş ve endotelin çıkarılması sonucunda apelin aracılı vazodilatatör etkinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Wang et al., 2015). Apelin-13'ün sıçan koroner arterinde serotonin ile uyarılan kasılmayı NO ve büyük kondüktanslı kalsiyum ile aktiflenen potasyum (BK_{Ca}) kanalı aktivasyonu aracılığı ile inhibe ettiği bildirilmiştir (Mughal et al., 2018a).

İnsan, sıçan ve fare gibi türlerde birçok farklı damar yatağında çeşitli apelin izoformları ile endotel bağımlı ve NO aracılı olarak vazodilatasyon oluştuğu belirlenmiştir. Apelinin vazodilatatör etkisinde öne sürülen mekanizmaya göre apelin APJ'ye bağlandıktan sonra PI3K/Akt aktivasyonu yoluyla eNOS fosforilasyonu ve bunun sonucunda da NO üretimi meydana gelmektedir. NO'nun vasküler düz kas hücrelerine difüzyonu sonrasında siklik guanozin monofosfat (cGMP)/protein kinaz G (PKG) yolağı aktifleşmektedir. Aktifleşen PKG sitoplazmik kalsiyumun Ca²⁺-

ATPaz aracılığı ile sarkoplazmik retikuluma pompalanmasını sağlamaktadır. Bu durum miyozin hafif zincirlerinin defosforilasyonunda artış ile sonuçlanmaktadır. Bunun sonrasında çapraz köprülerin sayısında azalma ve vazodilatasyon meydana gelmektedir (Folino et al., 2015; Read et al., 2019; Yang, Maguire, & Davenport, 2015). Bunlara ilave olarak BK_{Ca} kanallarının aktivasyonunun da vazodilatasyona katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Mughal et al., 2018a). Ayrıca apelin aracılı vazodilatasyonda prostanooidlerin de rol oynadığı ileri sürülmektedir (Maguire et al., 2009). Endotelin çıkarılması apelin ile uyarılan vazodilatatör etkiyi büyük oranda azaltmakta ancak tamamen ortadan kaldırmamaktadır. Bu nedenle apelinin endotelden bağımsız olarak da damar gevşetici etki gösterdiği düşünülmektedir (Wang et al., 2015). Apelinin önerilen vazodilatatör etki mekanizması ve olası yollar Şekil 4A’da gösterilmektedir.



Şekil 4: Apelin kaynaklı vazodilatasyon (A) ve vazokonstriksiyon (B) için önerilen mekanizmalar ve olası yollar (Read et al., 2019). Akt: protein kinaz B, AMPK: adozin monofosfat ile aktiflenen protein kinaz, BK_{Ca} : büyük kondüktanslı kalsiyum ile aktiflenen potasyum kanalı, eNOS: endotelial nitrik oksit sentaz, ERK: ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz, IP3: inositol trifosfat, MLC: miyozin hafif zinciri, NO: nitrik oksit, NCX: Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi, NHE: Na^+ - H^+ değiştiricisi, PGI_2 : prostaglandin I_2 , PI3K: fosfatidilinositol 3-kinaz, PKC: protein kinaz C PLC: fosfolipaz C, VEC: vasküler endotelial hücre, VSMC: vasküler düz kas hücresi

Endotelin deneysel olarak çıkarıldığı durumlarda ya da endotelin fonksiyonel olmadığı bazı patolojik durumlarda apelinin vazokonstriktör etkisi ön plana çıkmaktadır. Bu durumlarda vasküler düz kas hücrelerindeki APJ'ye bağlanan apelinin vazokonstriksiyona neden olduğu düşünülmektedir (Modgil, A., Guo, L., O'Rourke, & Sun, 2013). Endoteli çıkarılmış insan safen veni ve internal torasik arterinde [Pyr1]apelin-13'ün vazokonstriksiyona neden olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde endoteli çıkarılmış insan safen veninde apelin-13 ve apelin-36'nın vazokonstriktör etki gösterdiği belirlenmiştir (Katugampola et al., 2001; Maguire et al., 2009). Ateroskleroz hastalarından elde edilen insan koroner arterinde [Pyr1]apelin-13'ün vazokonstriktör etki gösterdiği bildirilmiştir (Pitkin, Maguire, Kuc, & Davenport, 2010). Asimetrik dimetil arginin (ADMA) ile endoteli hasarlanmış sıçan kuyruk arterinde apelin-13'ün vazokonstriktör etki sergilediği ileri sürülmüştür (Wang et al., 2011). Endoteli çıkarılmış fare torasik aortu kullanılan bir çalışmada apelinin vazokonstriktör etkisinde pertusis toksini duyarlı G protein, PKC, Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi (NCX) ve Na^+ - H^+ değiştiricisi (NHE) aracılı mekanizmaların rol oynadığı rapor edilmiştir (Hashimoto et al., 2006). Başka bir çalışmada apelin-13'ün sıçan serebral arterinde NO aracılı BK_{Ca} kanal aktivasyonunu engelleyerek bradikinin ile uyarılan gevşemeyi inhibe ettiği bildirilmiştir (Mughal, Sun, & O'Rourke, 2018b). Diğer çalışmaların aksine, endoteli çıkarılmış sıçan portal veninde apelin-13'ün vazokonstriktör etki göstermediği belirlenen bir çalışmada apelin-13'ün Ang II ile uyarılan vazokonstriksiyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (Gurzu et al., 2006).

Fonksiyonel bir endotelin olmadığı durumlarda önerilen mekanizmaya göre apelinin vasküler düz kas hücrelerindeki APJ'ye bağlanmasının PLC aktivasyonuna neden olduğu düşünülmektedir. Aktifleşen PLC, membran fosfolipidlerinden inositol trifosfat (IP_3) ve diaçilgliserol (DAG) üretimine neden olmaktadır. IP_3 reseptörlerinin aktivasyonu sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonunu artırmaktadır. Bununla birlikte meydana gelen ryanodin reseptör kanallarının aktifleşmesi sonucunda sitoplazmik kalsiyum daha da artmaktadır. Diğer taraftan DAG, PKC'yi aktive etmektedir. Bunun sonucunda PKC yoluyla NCX ve NHE uyarılmakta ve sitoplazmik kalsiyum artışına katkıda bulunmaktadır (Folino et al., 2015; Read et al., 2019; Yang et al., 2015). Bunlara ilave olarak voltaj kapılı L tipi kalsiyum kanallarının aktivasyonu ve

kalsiyum ile aktiflenen potasyum kanallarının inhibisyonu da sitoplazmik kalsiyum artışında rol oynamaktadır (Modgil et al., 2013). Sarkoplazmik kalsiyum artışı sonucunda miyozin hafif zincirlerinde fosforilasyonun artması sonrası devam eden mekanizmalar damar düz kasının kasılması nedeni ile vazokonstriksiyonla sonuçlanmaktadır. Ayrıca apelinin miyozin fosfataz aktivasyonunu inhibe etmesi sonucunda miyozin hafif zincirlerinin fosforilasyonu daha ileri düzeyde artmaktadır (Hashimoto et al., 2006). Apelinin öne sürülen vazokonstriktör etki mekanizması Şekil 4B’de gösterilmektedir.

Vasküler fonksiyonel etkileri belirgin ve önemli olan apelin kan basıncının periferik düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Zhang et al., 2018). Periferik olarak uygulanan apelin genellikle arteriyel kan basıncının azalmasına neden olmaktadır. İntravenöz (İV) olarak uygulanan apelin-12, apelin-13, apelin-36 ve [Pyr1]apelin-13 gibi apelin izoformlarının sıçanlarda kan basıncını azalttığı bildirilmiştir (Cheng et al., 2003; Lee et al., 2005; Reaux et al., 2001; Tatamoto et al., 2001). Sağlıklı insanlarda ve kalp yetmezliği hastalarında İV [Pyr1]apelin-13 uygulaması sonucunda kan basıncında azalma görülmüştür (Japp et al., 2010). Kronik hipertansif sıçanlarda İV apelin-13 uygulamasına bağlı olarak sistolik ve diyastolik kan basıncında düşüş olduğu belirlenmiştir (Najafipour et al., 2012). Buna karşın bazı çalışmalarda periferik uygulanan apeline bağlı olarak hipertansif etki gözlenmiş olup elde edilen bulgular apelinin vazokonstriktör etkisi ile uyumluluk göstermektedir. İV uygulanan apelin-13’ün koyunlarda kan basıncı üzerinde bifazik etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada önceleri görülen kan basıncındaki düşüşün daha sonrasında yerini artışa bıraktığı gözlenmiştir (Charles, Rademaker, & Richards, 2006). İV uygulanan [Pyr1]apelin-13’ün uyanık sıçanlarda ortalama arteriyel kan basıncı (OAKB)’ni artırdığı belirlenmiştir (Kagiyama et al., 2005). eNOS inhibitörü N(ω)-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) uygulanan farelerde İV uygulanan [Pyr1]apelin-13’ün sistolik kan basıncında artışa neden olduğu gözlenmiştir (Han, Zhang, Yin, Zhang, & Liu, 2013). ADMA ile endotel hasarı oluşturulan sıçanlarda apelin-13 uygulamasının sistolik kan basıncını artırdığı bildirilmiştir (Nagano, Ishida, Unno, Matsukura, & Fukamizu, 2013).

Periferik etkilerinin yanında apelinin kan basıncının santral düzenlenmesinde de rolü olduğu düşünülmektedir (Zhang et al., 2018). Spontan hipertansif sıçanlarda rostral ventrolateral medulla (RVLM) ve paraventriküler nükleus (PVN)'ta apelin ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (Zhang et al., 2014; Zhang, Yao, Raizada, O'Rourke, & Sun, 2009). RVLM'ye apelin gen transferinin normotansif sıçanlarda hipertansiyona neden olduğu gösterilmiştir (Zhang et al., 2009). [Pyr1]apelin-13 veya apelin-13'ün sıçanlarda intraserebroventriküler (İSV) olarak RVLM, PVN veya nükleus traktus solitarius'a uygulanması sonucunda kan basıncında artış meydana geldiği rapor edilmiştir (Seyedabadi, Goodchild, & Pilowsky, 2002; Yao et al., 2011; Zhang et al., 2009; Zhang et al., 2014). Apelin-13'ün İSV olarak uyanık sıçanlara uygulanması sonucunda OAKB'de artış olduğu bildirilmiştir (Cudnoh-Jedrzejewska et al., 2015). Buna karşın, İSV [Pyr1]apelin-13 uygulamasının anestezi altındaki sıçanlarda kan basıncında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir (Reaux et al., 2001). Anestezi altındaki sıçanlarda subfornikal organa apelin-13 uygulanan bir çalışmada ise kan basıncında düşüş gözlenmiştir (Dai et al., 2006).

Apelinin bazı patolojik durumlarda bozulan damar fonksiyonlarını düzelttiği çeşitli çalışmalarda ileri sürülmektedir. Apelinin diyabetik farelerde bozulmuş olan Ang II ile kasılma ve asetilkolin (Ach) ile gevşeme yanıtlarını düzelttiği bildirilmiştir. Bu çalışmada Akt ve eNOS fosforilasyonunun apelinin bu iyileştirici etkisinde rolü olduğu gösterilmiştir (Zhong et al., 2007a). Diyabetik farelerin renal arterlerinde artmış Ang II ve azalmış Ach yanıtlarının, apelin tarafından eNOS fosforilasyonu sonucunda NO üretiminin artırılması yoluyla düzeltildiği belirlenmiştir (Zhong et al., 2007b). Apelinin pulmoner arteriyel hipertansiyonda ortalama pulmoner arter basıncını düşürerek iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Andersen, Hilberg, Mellekjær, Nielsen-Kudsk, & Simonsen, 2011).

Apelinin plazma yarılanma ömrünün oldukça kısa olduğu ve 8 dakikayı aşmadığı ileri sürülmektedir (Japp et al., 2008). Bu durumun apelinin etki süresinin kısa olmasına ve terapötik potansiyelinin azalmasına neden olduğu düşünülmektedir (Folino et al., 2015). Bu nedenle etki süresi daha uzun olan ve daha güçlü etki gösteren APJ agonistleri ve apelin analogları geliştirilmeye çalışılmaktadır. Son yıllarda geliştirilmiş olan MM07'nin yarılanma ömrünün yaklaşık olarak 17 dakika

olduğu ve apelin izoformlarından daha uzun olduğu bildirilmiştir. MM07'nin ön kol kan akımını ve kardiyak outputu önemli ölçüde artırdığı belirlenmiştir (Brame et al., 2015). APJ reseptör agonisti E339-3D6'nın ön kasılmaya tabi tutulmuş sıçan torasik aortunda Ach'den daha düşük dozlarda gevşeme sağladığı gösterilmiştir (Iturrioz et al., 2010). Oldukça uzun yarılanma ömrüne sahip apelin-17 analogları olan P92 ve LIT01-196'nın sıçan torasik aortu ve glomerüler arteriollerinde vazodilatatör etki gösterdiği belirlenmiştir (Gerbier et al., 2017).

2.3. Elabela ve Vasküler Kontraktilite

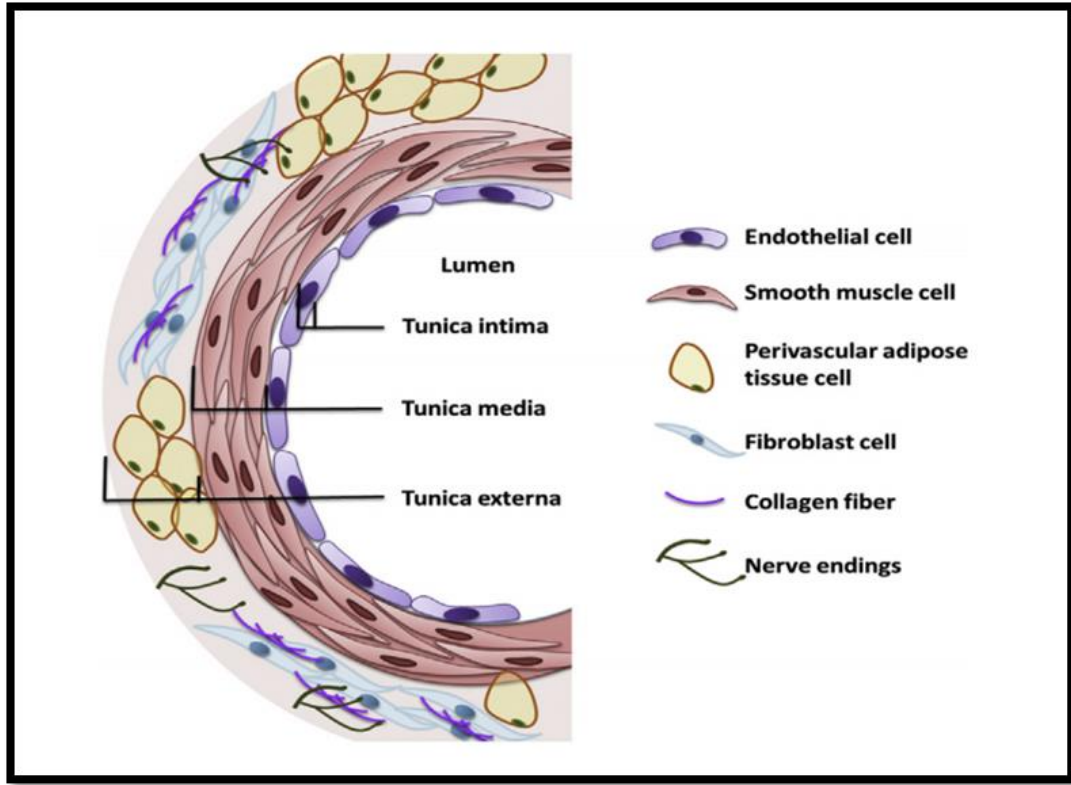
Elabelanın vasküler fonksiyonlar üzerindeki etkilerinin araştırıldığı az sayıda çalışma vardır. Ela-32'nin U46619 ile ön kasılma uygulanmış fare aortunda endotel bağımlı ve bağımsız mekanizmalarla gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir (Wang et al., 2015). Ela-32'nin izole sıçan kalbinde koroner vazodilatasyona neden olduğu belirlenmiştir (Perjés et al., 2016). Apeline benzer şekilde elabelanın da periferik uygulamada hipotansif etki gösterdiği ileri sürülmektedir. Ela-32'nin ve [Pyr1]apelin-13'ün sıçanlarda sistemik vazodilatasyona neden olarak kan basıncında düşüşe neden olduğu belirlenen *in vivo* bir çalışmada daha düşük dozlardaki Ela-32'nin [Pyr1]apelin-13 ile benzer veya daha yüksek düzeyde etki gösterdiği gözlenmiştir (Yang et al., 2017). Elabela ve analoglarının sıçanlarda arteryel kan basıncını azalttığı bildirilmiştir (Murza et al., 2016). Apelin ve elabela ile ilgili vasküler kontraktilite çalışmaları Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1: Apelin ve elabelanın vazodilatör etkisi ve etki mekanizması ile ilgili çalışmalar. Ang II: anjiyotensin II, BK_{Ca}: büyük kondüktanslı kalsiyum ile aktiflenen potasyum kanalı, ET-1: endotelin-1, NE: norepinefrin, NO: nitrik oksit

Etken madde	Denek	Damar	Kasıcı ajan	Mekanizma	Kaynak
apelin-13	sıçan	portal ven	Ang II	NO	Gurzu et al., (2006)
apelin-13	insan	mezenterik arter, hepatic arter	U46619	NO (sadece mezenterik arterde)	Salcedo et al., (2007)
[Pyr1]apelin-13, apelin-36	İnsan (<i>in vivo</i>)	ön kol direnç damarları	-	NO	Japp et al., (2008)
[Pyr1]apelin-13, apelin-13, apelin-36	insan	internal torasik arter (koroner arter hastalarından elde edilmiştir)	ET-1	Prostanoidler ([Pyr1]apelin-13'ün vazodilatör etkisinde)	Maguire et al., (2009)
apelin-13	sıçan	pulmoner arter	ET-1, Ang II	-	Andersen et al., (2009)
apelin	sıçan	pulmoner arter	NE	NO	Huang et al., (2011)
apelin-13	fare	aort	U46619	-	Wang et al., (2015)
apelin-13	sıçan	koroner arter	serotonin	NO, BK _{Ca}	Mughal et al., (2018a)
Ela-32	fare	aort	U46619	NO'dan bağımsız	Wang et al., (2015)
Ela-32	sıçan	koroner arter	-	-	Perjés et al., (2016)

2.4. Damar Duvarının Yapısı ve Vasküler Düz Kas

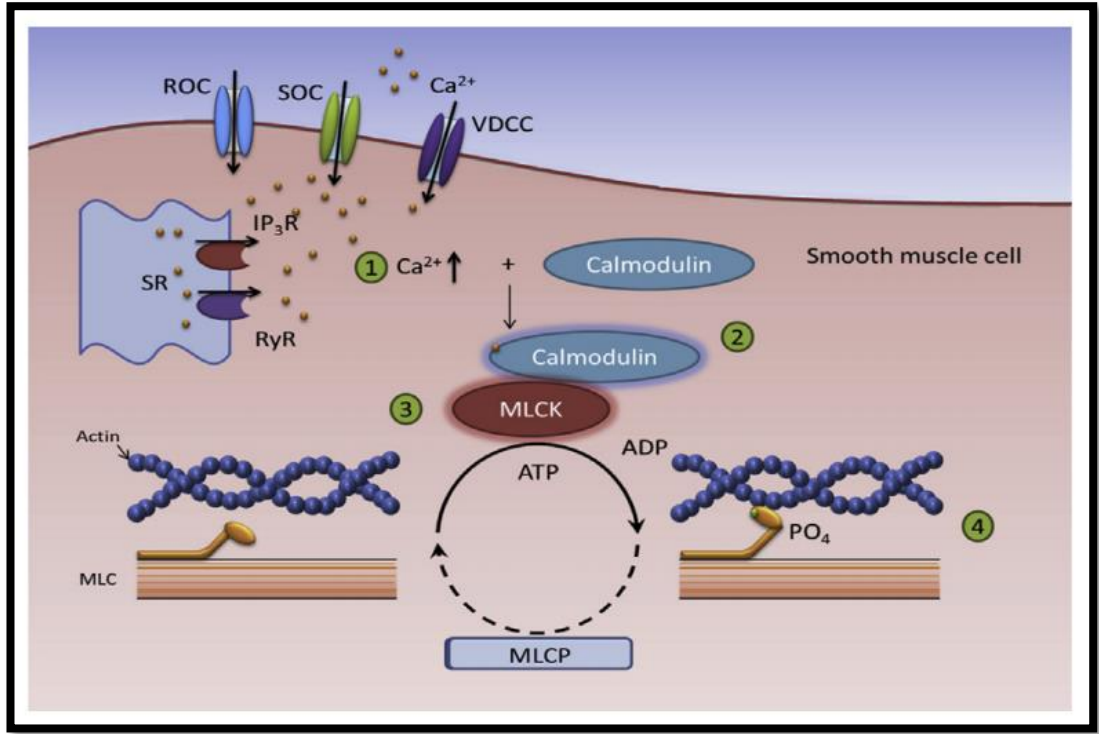
Damar duvarında 3 tabaka bulunmaktadır. Bunlar tunika intima, tunika media ve tunika adventisya olarak adlandırılmaktadır (Şekil 5). Tunika intimada tek katlı endotelial hücre tabakası bulunurken tunika mediada vasküler düz kas hücreleri yer almaktadır. Endotel hücre tabakası kalpten başlayarak kılcal damarlara kadar kan damarlarının iç yüzeyini kaplamaktadır. Bu sayede lümendeki kan ile çevre dokular arasında bir bariyer işlevi görmektedir. Endotel hücreleri NO, prostanoidler ve çeşitli peptidleri salgılayarak ve endotel kaynaklı hiperpolarizasyonu başlatarak kan damarlarının çapının hem bazal hem de dinamik düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Zhao, Vanhoutte, & Leung, 2015).



Şekil 5: Damar duvarının yapısı (Zhao et al., 2015).

Vasküler düz kas tabakası kan damarlarının kasılma ve gevşemesini düzenlemektedir. Vasküler düz kasın kasılması lümen içi basınç artışı ve gerilme ile mekanik olarak ya da çeşitli ajanların membrandaki reseptörlerine bağlanması ile farmakolojik olarak başlatılabilmektedir. Bu aktivatörler sonuç olarak sarkoplazmik

retikulum gibi hücre içi kaynaklardan ya da kalsiyum kanalları aracılığıyla hücre dışından kalsiyum girişine ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışına neden olmaktadır. Hücre içi serbest kalsiyum iyonu kalmoduline bağlanarak kalsiyum-kalmodulin kompleksini oluşturmakta ve miyozin hafif zincir kinazı aktive etmektedir. Sonuçta miyozin hafif zincirleri fosforillenip, çapraz köprüler oluşmakta ve vasküler düz kasta kasılma meydana gelmektedir (Zhao et al., 2015) (Şekil 6).



Şekil 6: Vasküler düz kasın kasılma mekanizması (Zhao et al., 2015). ADP: adenozin difosfat, ATP: adenozin trifosfat, Ca^{2+} : kalsiyum, IP_3R : IP_3 reseptör kanalı, MLC: miyozin hafif zinciri, MLCK: miyozin hafif zincir kinaz, MLCP: miyozin hafif zincir fosfataz, PO_4 : fosfat, ROC: reseptör kontrollü kalsiyum kanalı, RyR: Riyanodin reseptör kanalı, SR: sarkoplazmik retikulum, SOC: depo kontrollü kalsiyum kanalı, VDCC: voltaj kapılı kalsiyum kanalı

Adventisya tabakası sinir sonlanmaları ve perivasküler yağ dokusunun yanı sıra çevre organlara tutunmayı sağlayan fibroblast ve kollajen gibi bağ dokusu elemanlarını içermektedir. Adventisya tabakasının çeşitli komponentleri vasküler gelişim ve yeniden modelleme, bağışıklık, immün hücre trafiği ve sinyal iletimi gibi işlevlerde rol almaktadır (Zhao et al., 2015). Perivasküler yağ dokusundaki adipositler adipokinleri salgılayarak vasküler tonus düzenlenmesinde önemli bir işleve sahiptir. Perivasküler yağ dokusu bulunan sıçan torasik aortu gibi damarlarda

fenilefrin gibi maddeler ile oluşan kasılma yanıtı azalmaktadır (Soltis, & Cassis, 1991). Bu durumun adipöz doku kaynaklı gevşetici faktörler aracılığı ile oluştuğu düşünülmektedir. Bu faktörler düz kasta doğrudan gevşetici rol oynayabileceği gibi NO üretimine neden olarak da gevşemeye neden olabilmektedir (Zhao et al., 2015).

2.5. eNOS/NO Yolağı ve Vasküler Tonus

Serbest bir radikal olan NO, doğal olarak yıldırım gibi elektrik deşarjlarından kaynaklanabilmekte veya kimyasal bir ara ürün olarak üretilebilmektedir. Bununla birlikte NO bir hava kirletici olarak otomobil motorlarından veya fosil yakıtlı enerji santrallerinden kaynaklanabilmektedir (Chen, Yang, Buzanowski, & Cichanowicz, 1990; Goldenbaum & Dickerson, 1993; Murad, 1999; Zhao et al., 2015). NO'nun potansiyel endojen üretimi endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak Robert Furchgott ve Louis Ignarro tarafından bağımsız olarak 1986'da ileri sürülmüştür ve daha sonraki çalışmalarda bu bilgi doğrulanmıştır (Furchgott et al., 1988; Ignarro, Byrns, & Wood, 1988). Böylece NO, organizmada bir sinyal aracı olarak kabul edilen ilk gaz halindeki molekül olmuştur (SoRelle, 1998). Daha sonraki çalışmalarda NO'nun kardiyovasküler sistemin fizyolojik regülasyonunda anahtar bir rol oynadığı ortaya konulmuştur. NO üretimindeki ve/veya biyoyararlanımındaki anormallikler hipertansiyon ve ateroskleroz gibi hastalıklara ve anjiyogenez ile ilişkili bozukluklara neden olabilmekte veya eşlik edebilmektedir (Moncada, & Higgs, 2006; Vanhoutte, Shimokawa, Tang, & Feletou, 2009). Bunlara ek olarak NO, sinir ve bağışıklık sistemleri, davranışın düzenlenmesi, gastrointestinal motilite, bulaşıcı hastalık ve tümörlere karşı savunma mekanizmaları gibi süreçlere katkıda bulunmaktadır (Napoli, & Ignarro, 2001; Toda, Ayajiki, & Okamura, 2012; Zhao et al., 2015).

L-arginin en iyi bilinen NO kaynağı ve NOS substratıdır (Sakuma, Stuehr, Gross, Nathan, & Levi, 1988). L-argininden NO üretimini sağlayan ve farklı genler tarafından kodlanan 3 ayrı NOS izoenzimi bulunmaktadır. Bunlar nöronal NOS (nNOS), sitokin ile uyarılan NOS (iNOS) ve endotelial NOS (eNOS)'tur (Forsterman, & Sessa, 2012). Bu 3 NOS açısından *null* olan farelerde endotel aracılı damar gevşemesi azalmıştır. Ayrıca bu farelerde yaşam beklentisi hipertansiyon, diyastolik kalp yetmezliği, kardiyak hipertrofi, ateroskleroz, miyokard infarktüsü gibi hastalıkların erken olarak ortaya çıkması nedeni ile kısalmıştır (Tsutsui et al., 2015).

eNOS vasküler fonksiyonların düzenlenmesinde rol alan majör NOS izoformudur. eNOS aktivasyonu ve NO üretimi birçok farklı uyaran tarafından kalsiyum bağımlı ve kalsiyum bağımsız mekanizmalarla başlatılabilmektedir. Bunlardan bazıları *shear stress*, Ach, bradikinin, histamin ve 17 β -estradiol olarak sıralanabilir (Zhao et al., 2015). Ach, bradikinin ve histamin gibi agonistler endotelial hücre membranındaki spesifik reseptörlerine bağlanarak, kalmoduline bağlanmak suretiyle eNOS üzerindeki kalmodulin bağlayıcı bölgenin aktifleşmesine öncülük eden, hücre içi kalsiyumun artışına neden olmaktadır (Hall, 1997; Parsons, & Ganellin, 2006; Walch, Brink, & Norel, 2000). Bu durum enzimin NO üretimini uyarmak olan redüktaz bölgesinden oksijenaz bölgesine elektron akışına neden olmaktadır. Diğer taraftan kalsiyum konsantrasyonundan bağımsız olarak fosforilasyonu da enzimin aktivasyonu için önemlidir çünkü bu durum elektronların redüktaz bölgesinden oksidaz bölgesine aktif olarak akışını kolaylaştırmaktadır (Sessa, 2004). Bu modifikasyon eNOS aktivitesini değiştirmektedir. Farklı bölgelerin fosforilasyonu enzim aktivitesinde karşıt etkilere neden olabilmektedir (Kolluru, Siamwala, & Chatterjee, 2010). Örneğin Ser1177 (bazı türlerde Ser 1179) bir aktivasyon bölgesi iken Thr495 eNOS için bir inhibisyon bölgesidir. PKA ve Akt, birçok uyarana yanıt olarak eNOS enzimini Ser1177 bölgesinden fosforilleyerek aktive etmektedir (Chen et al., 1999; Dimmeler et al., 1999). Buna karşın hidrojen peroksit ve bradikinin eNOS aktivitesini hem Ser1177 fosforilasyonunu hem de Thr495 defosforilasyonunu uyarak artırmaktadır (Harris et al., 2001; Thomas, Chen, & Keaney, 2002). Hemodinamik *shear stress* ve 17 β -estradiol, NO salımını esas olarak bu kalsiyum bağımsız yolak ile uyarmaktadır (Caulin-Glaser, Sarrel, Sessa, & Bender, 1997; Kuchan, & Frangos, 1994). Özellikle *shear stress* PKA bağımlı bir mekanizma ile Ser1179 ve Ser635 bölgelerinin fosforilasyonunu uyarmaktadır (Boo et al., 2002a; Boo et al., 2002b). Bununla birlikte puerarin gibi çeşitli bitkiler Akt bağımlı bir mekanizma ile eNOS fosforilasyonu aracılığı ile vasküler tonusu düzenlemektedir (Li et al., 2015; Zhang et al., 2008).

Endotel kaynaklı NO güçlü bir vazodilatatördür ve *soluble* guanilat siklaz (sGS)'ı uyarak vasküler düz kas hücrelerinde cGMP oluşumunu uyarmaktadır. cGMP, PKG'yi aktive etmektedir. PKG, sitozolik kalsiyumun sarkoplazmik retikuluma geri alınmasını, kalsiyumun hücre dışına atılmasını ve kalsiyum ile

aktiflenen potasyum kanallarının açılmasını uyarmaktadır. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun azalması sonucunda miyozin hafif zincir kinaz (MLCK) miyozini daha fazla fosforilleyememekte ve düz kas gevşemesi meydana gelmektedir. Bunun yanında NO, sGS aktivasyonundan bağımsız olarak da hücrel aktiviteyi etkileyebilmektedir. Böylece NO, sarko/endoplazmik retikulum ATPaz'ı uyarak hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu azaltıp düz kas gevşemesine neden olmaktadır (Hussain, Hobbs, & MacAllister, 1999; Carvajal, Germain, Huidobro-Toro, & Weiner, 2000; Weisbrod et al., 1998; Zhao et al., 2015).

2.6. MAPK Yolağı ve Vasküler Tonus

Sıralı olarak hareket eden proteinlerden oluşan bir sinyal yolağı olan MAPK yolağı (Ras-Raf-MEK-ERK yolağı olarak da bilinir) hücrel büyüme, çoğalma, farklılaşma, hayatta kalma, dönüşüm ve apoptoz gibi hücrel süreçlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Yuan et al., 2020). Sinyallerin bu yoldan iletilmesi genellikle G proteinine bağı reseptör, reseptör tirozin kinaz veya stres uyaranları tarafından başlatılmaktadır.

MAPK enzim ailesi arasında ERK'ler (ERK 1, ERK 2, ERK 3/4, ERK 5, ERK 7), c-Jun amino-terminal kinazlar ve p38 MAPK'lar yer almaktadır (Cargnello, & Roux, 2011). ERK 1 ve ERK 2 en çok çalışılan ERK izozimleridir. MAPK protein kinaz ailesinin tümü için ortak olan, üç protein kinazdan oluşan sıralı bir fosforilasyon kaskadı yoluyla aktivasyondur: MAPK kinaz kinaz (MAP3K), MAPK kinaz (MEK; MAP2K) ve MAPK. ERK 1 ve ERK 2, Ras/Raf/MEK kaskadıyla etkinleştirilmektedir. Ras'ın aktivasyonu, bir MEK kinaz olan Raf'ın aktivasyonuna yol açmakta ve bu da MEK'i aktive etmektedir. Daha sonra MEK aracılığı ile ERK 1 ve ERK 2'yi aktive etmek için treonin 202 ve tirozin 204'ün fosforilasyonu gerçekleştirilmektedir (Cobb, 1999).

İzole edilmiş kan damarlarının bazı G protein kenetli reseptörlerin aktivasyonuna yanıt olarak kasılmasının ERK aktivitesindeki artış ile ilişkili olduğu bildirilmiş ve MEK'in inhibe edilmesiyle ERK aktivasyonundaki inhibisyonun kan damarlarının kasılmasını azalttığı belirlenmiştir (Banes, Florian, & Watts, 1999; Roberts, 2001). Gerilme kaynaklı kasılmaların da ERK aktivitesindeki artışla ilişkili

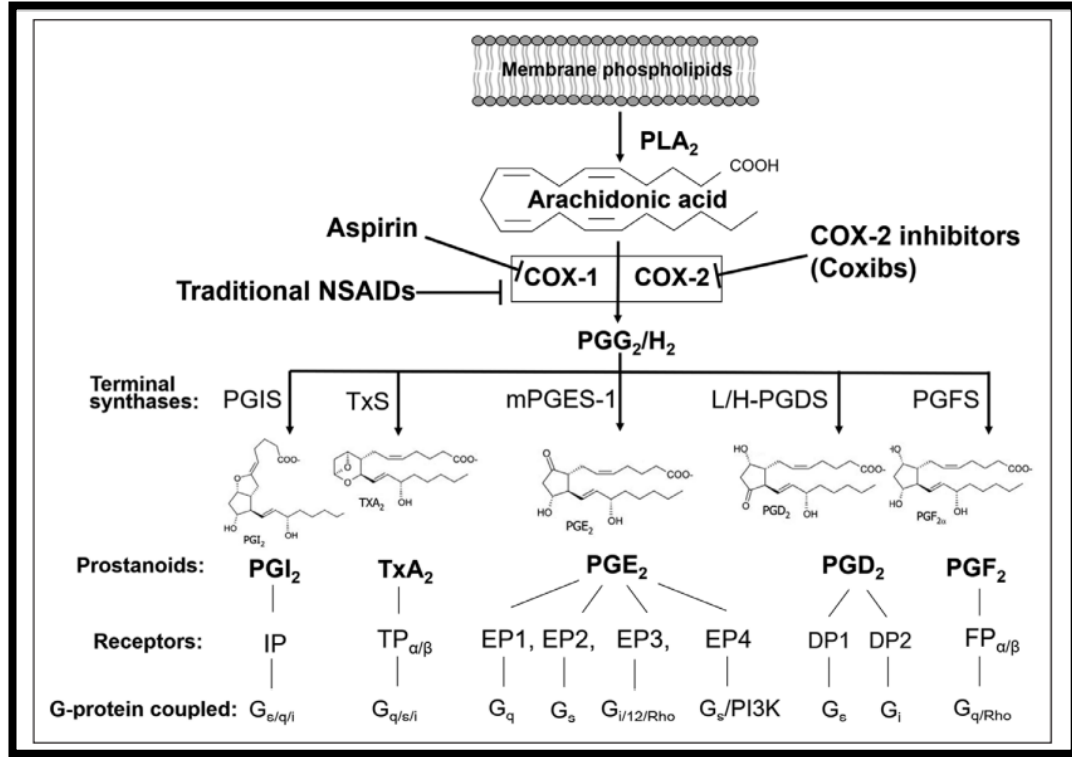
olduğu rapor edilmiştir (Oeckler, Kaminski, & Wolin, 2003). ERK'nin kasılma yanıtındaki göreceli rolünün aktive edilen reseptöre ve/veya kan damarına bağlı olduğu düşünülmektedir (Roberts, 2012). ERK'nin, yaban gelinciği aortundaki $\alpha 1$ -adrenoseptör aracılı kasılmalara kıyasla domuz palmar lateral venindeki $\alpha 2$ -adrenoseptör aracılı kasılmalarda daha büyük bir rol oynadığı gözlenmiştir (Dessy, Kim, Sougnez, Laporte, & Morgan, 1998; Roberts, 2001). ERK'nin kan damarlarının kasılmasına neden olduğu mekanizma net olarak aydınlatılamamıştır ancak ERK aracılı miyozin hafif zincir kinaz aktivasyonunun kasılmaya aracılık ettiği düşünülmektedir (Klemke et al., 1997). Domuz palmar lateral veninde yapılan bir çalışmada ERK aktivasyonundaki inhibisyonun miyozin hafif zincir fosforilasyonunda azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Roberts, 2004).

2.7. Prostanoidler ve Vasküler Tonus

Prostanoidler araşidonik asitten siklooksijenazlar (COX 1 ve COX 2) aracılığı ile türetilmektedir. Bu yolla araşidonik asitten öncelikle endoperoksidler (PGH₂) üretilmektedir. Daha sonra ise tromboksan A₂ (TxA₂), prostasiklin (PGI₂) ve prostaglandinler (PGD₂, PGE₂, PGF_{2 α}) sentezlenmektedir. Prostanoidler etkilerini spesifik G protein kenetli reseptörleri aracılığıyla ortaya koymaktadır. Bu reseptörler, TxA₂ reseptörü (TP), prostasiklin reseptörü (IP), prostaglandin D reseptörleri (DP1 ve DP2), prostaglandin E reseptörleri (EP1, EP2, EP3 ve EP4), prostaglandin F reseptörü (FP) olarak adlandırılmaktadır (Félétou, Huang, & Vanhoutte, 2011). Prostanoidlerin sentezlenmesi, reseptörleri ve ilişkili G proteinler Şekil 7'de gösterilmektedir.

Prostanoidler, fizyolojik ve patolojik uyarıya yanıt olarak vazokonstriksiyona veya vazodilatasyona aracılık edebilmektedir (Zhu, Zhang, Guo, & Wang, 2020). COX inhibisyonuna duyarlı olan prostaglandinlerin akım aracılı olarak arteriollerde meydana gelen vazodilatasyonda rol oynadığı bildirilmiştir (Koller, & Kaley 1990). Prostanoid aracılı vazodilatatör etkinliğin eNOS/NO gibi diğer endotel kaynaklı vazodilatatör yolların baskılandığı durumlarda daha ön planda olduğu ve nörohümorale faktörlerden çok kan akımı ile ilişkili nedenlerle ortaya çıktığı ileri sürülmektedir (Corriu, Félétou, Canet, & Vanhoutte, 1996; Duffy et al., 1998; Koller, Sun, & Kaley, 1993; Zygmunt, Plane, Paulsson, Garland, & Högestätt, 1998).

Prostanoidler arasında özellikle PGI₂, PGD₂ ve PGE₂'nin genellikle vazodilatatör etkinlik gösterdiği, buna karşın PGH₂, PGF_{2α} ve TxA₂ gibi diğer bazılarının ise genellikle vazokonstriktör etkinlik gösterdiği belirtilmektedir (Félétou et al., 2011).



Şekil 7: Prostanoidlerin sentezi ve sinyalizasyonu (Zhu et al., 2020). COX: siklooksijenaz, Coxib: COX 2 selektif inhibitörü, DP: prostaglandin D reseptörü, EP: prostaglandin E reseptörü, FP: prostaglandin F reseptörü, IP: prostasiklin reseptörü, mPGES: mikrozomal prostaglandin E sentaz, NSAIDs: non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar, PG: prostaglandin, PGDS: PGD sentaz, PGFS: PGF sentaz, PGI₂: prostasiklin, PGIS: PGI sentaz, PI3K: fosfatidilinositol 3-kinaz, PKA: protein kinaz A, PLA₂: fosfolipaz A₂, TP: TxA₂ reseptörü, TxA₂: tromboksan A₂, TxS: tromboksan sentaz

Güçlü bir vazodilatatör olan PGI₂'nin insanlarda ve farelerde koroner kan akımının düzenlenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir (Gutterman et al., 2016; Gwóźdz, Drelicharz, Kozlovski, & Chlopicki, 2007). PGI₂ ve sentetik analoglarının genellikle çeşitli potasyum kanallarının açılması sonucunda hiperpolarizasyona neden olarak vazodilatasyon meydana getirdiği düşünülmektedir (Corriu, Félétou, Edwards, Weston, & Vanhoutte, 2001; Félétou, & Vanhoutte, 2007).

PGE₂ damar yatağı ve ilgili reseptör alt tipine bağlı olarak büyük kan damarlarını genişletebilmekte (EP2, EP4) veya daraltabilmektedir (EP1, EP3) (Zhu et al., 2020). İzole edilmiş büyük arterlerde mikrozomal PGE sentaz-1 (mPGES-1)

inhibisyonunun PGI₂'yi artırarak noradrenalin kaynaklı vazokonstriksiyonu azalttığı gösterilmiştir (Ozen et al., 2017). mPGES-1'in direnç damarlarındaki akım aracılı vazodilatasyonda ve iskemi/reperfüzyon durumunda doku perfüzyonunun sağlanmasında rol oynadığı ve bu koşullarda EP4'ün vazodilatatör etkiye aracılık eden ana reseptör olduğu ileri sürülmektedir (Zhu et al., 2019). Mezenterik arter halkalarının kullanıldığı bir *ex vivo* çalışmada mPGES-1'in direnç arterlerinde endotel bağımlı vazodilatatör etkiye aracılık ettiği fakat iletim arterlerinde bu etkinin görülmediği belirlenmiştir (Zhu et al., 2020).

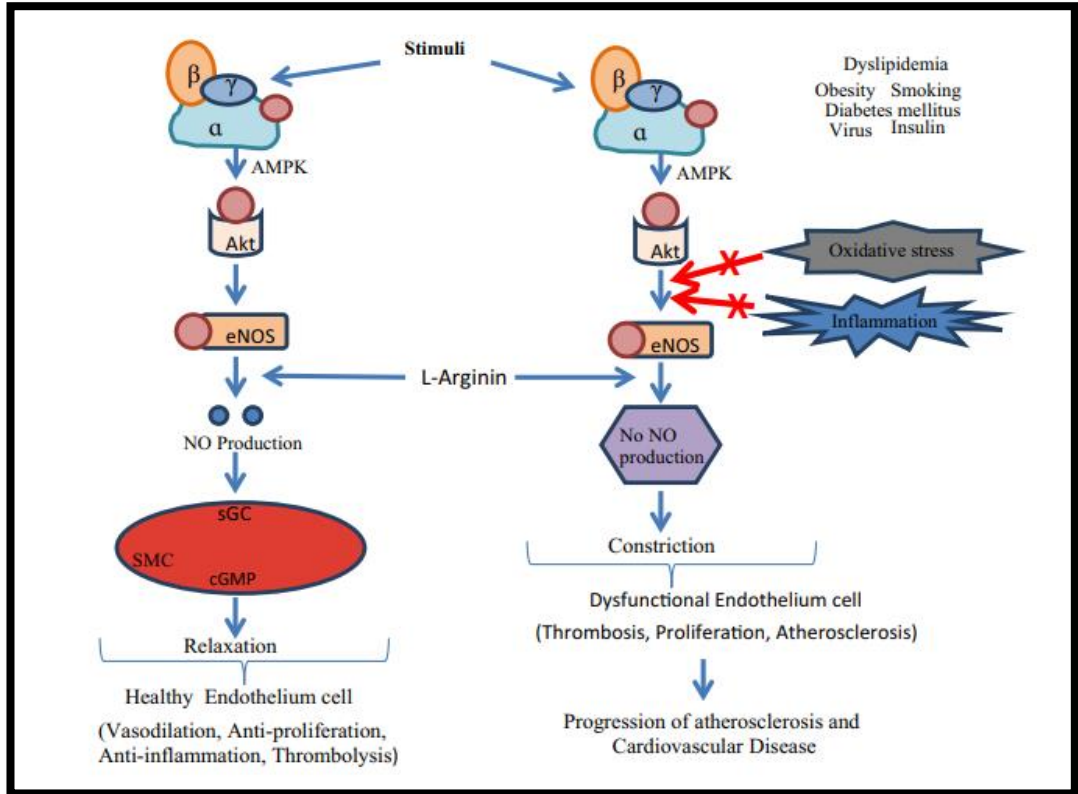
PGD₂ injeksiyonunun fare kulak damarlarında doza bağımlı bir şekilde vazodilatasyona neden olduğu belirlenmiştir (Zhu et al., 2020). PGF₂α'nın sıçan femoral arter şeritlerinde vazokonstriksiyona neden olduğu, benzer şekilde hamster aortunda da muhtemelen TP reseptörleri yoluyla vazokonstriktör etki gösterdiği bildirilmiştir (Wong et al., 2009). TxA₂'nin, koroner ve serebrovasküler iskemide rol oynayan güçlü bir vazokonstriktör olduğu gösterilmiştir (Smith, Araki, & Lefler, 1980).

2.8. AMPK Yolağı ve Vasküler Tonus

AMPK α, β ve γ olmak üzere 3 alt birimden oluşan bir serin/treonin kinazdır. Alt birimlerden α ve β'nin 2'şer izoformu (α1, α2, β1, β2) bulunurken γ alt biriminin 3 izoformu (γ1, γ2, γ3) mevcuttur. Bu izoformların herbiri farklı genler tarafından kodlanmaktadır. Bu alt birimlerden α katalitik alt birim olup β ve γ düzenleyici alt birimler olarak görev yapmaktadır. Farklı dokularda bu izoformların çeşitli kombinasyonlardaki heterotrimerik kompleksleri bulunabilmektedir (Salt, & Hardie, 2017).

AMPK tüm vücudun hücrel enerji homeostazının temel bir düzenleyicisidir. AMPK'nın hücrelerde enerji sensörü olarak görev yaptığı ileri sürülmektedir. Birçok hücrel işlevi düzenlediği belirlenen AMPK'nın kardiyovasküler dokularda da önemli rollere sahip olduğu gösterilmiştir. AMPK'nın kardiyak metabolizma ve kasılma işlevlerinin düzenlenmesine katıldığı, ayrıca kan damarlarındaki antikontraktıl, antienflamatuar ve antiaterojenik etkilerde rolü olduğu bildirilmiştir. Metformin, tiazolidindionlar, dipeptidil peptidaz-4 inhibitörleri, salisilat, fenofibrat,

statinler, resveratrol, berberin ve *curcumin* gibi ajanların yanı sıra, glukagon benzeri peptid-1, adiponektin ve leptin gibi hormonların AMPK aktivasyonuna neden olduğu bilinmektedir. Deneysel olarak AMPK aktivasyonu için AICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside) ve A769662 gibi ajanlar kullanılırken, AMPK inhibitörü olarak genellikle dorsomorfin (*Compound C*) kullanılmaktadır (Lyons, & Roche, 2018; Salt, & Hardie, 2017).



Şekil 8: AMPK yolağı ve vasküler tonus (Verma et al., 2020). Akt: protein kinaz B, AMPK: adenosin monofosfat ile aktiflenen protein kinaz, cAMP: siklik adenosin monofosfat, cGMP: siklik guanozin monofosfat, eNOS: endotelial nitrik oksit sentaz, NO: nitrik oksit, sGC: *soluble* guanilat siklaz, SMC: düz kas hücresi

Vasküler endotelial hücre, vasküler düz kas hücresi ve perivasküler adipöz dokudan kaynaklanabilen AMPK'nın vasküler tonusun düzenlenmesine katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (Verma et al., 2020) (Şekil 8). AMPK'nın vasküler endotelial hücrelerdeki eNOS aktivitesini artırdığı bildirilmiştir. Bunun sonucunda NO aracılı ve endotel bağımlı vazodilatasyonda artış meydana gelmektedir (Ewart, & Kennedy, 2011). AMPK'nın endotelden bağımsız vazodilatasyonda da rolü olduğu belirlenmiştir. Bu etki vasküler düz kas hücresindeki MLCK'nın Ca^{+2} duyarlılığının

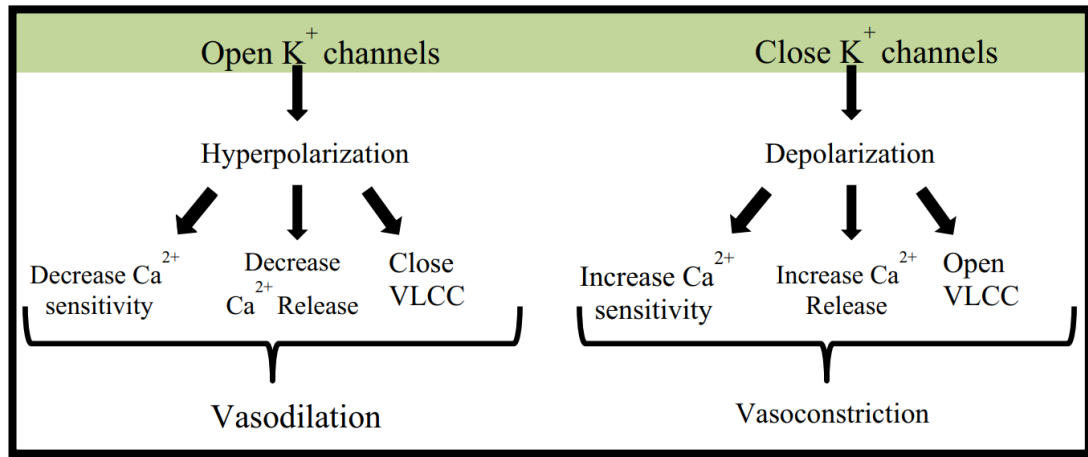
azalması yolu ile sağlanmaktadır. Bu durumun vazoprotektif etkiye katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Salt, & Hardie, 2017). Metformin, tiazolidindionlar ve statinler gibi ajanların vazoprotektif etkilerinin AMPK aktivasyonu yoluyla meydana geldiği ileri sürülmektedir (Ewart, & Kennedy, 2011; Yan et al., 2017). AMPK aktivasyonunun spontan hipertansif sıçanlarda NO aracılı vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiştir (Ford et al., 2012). Ayrıca AMPK'nın fare aort preparatlarında endotelden bağımsız vasküler düz kas gevşemesine neden olduğu bildirilmiştir (Goirand et al., 2007). AMPK'nın vasküler endotel hücrelerdeki eNOS'u Ser1177'den fosforilleyerek aktive ettiği gösterilmiştir (Chen et al., 1999; Morrow et al., 2003). AICAR ile uyarılan eNOS aktivasyonu için Ser633 fosforilasyonunun da gerekli olduğu belirlenmiştir (Chen et al., 2009). AMPK'nın eNOS aracılığı ile NO sentezi için yeterli miktarda olması gereken tetrahidrobiopterin (BH4) seviyesini BH4 sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan guanozin trifosfat siklohidrolaz I degradasyonunu engellemek suretiyle artırarak da NO sentezini iyileştirdiği gösterilmiştir (Wang, Xu, Song, Viollet, & Zou, 2009). BH4'ün yetersizliği eNOS'un dimerize olamamasına ve süperoksit üretmesine neden olmaktadır (Siragusa, & Fleming, 2016). AMPK'nın eNOS'u aktive etmesinin yanı sıra NO'nun da doğrudan AMPK aktivasyonuna neden olabileceği ileri sürülmektedir. Farklı türlerde ve çeşitli damar yataklarında yapılan çalışmalarda AICAR'ın arteriyel vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiş olup bu etkinin AMPK- α 1 yoksun farelerde büyük oranda azaldığı bildirilmiştir (Goirand et al., 2007; Salt, & Hardie, 2017). AICAR'ın vazodilatatör etki mekanizmasında NO-endotel aracılı ve NO-endotel aracısız mekanizmaların rol aldığı ileri sürülmekle birlikte bu durum tam olarak netleştirilememiştir. AMPK- α 1'in direnç arterlerinin endotel bağımlı hiperpolarizasyon aracılı gevşemesinde önemli olduğu belirlenmiştir (Enkhjargal et al., 2014). AMPK- α 2'nin ise vasküler tonusun düzenlenmesindeki rolünün daha az önemli olduğu bildirilmiştir (Goirand et al., 2007). AMPK- α 2 nakavt farelerde hipertansif etki ve aort halkalarında fenilefrine artmış kasılma yanıtı gözlenmiştir (Liang et al., 2013). Endotel hücresi spesifik olarak AMPK- α 2 nakavt farelerde bradikinin aracılı vazodilatasyonda yetersizlik görülmüş ve bu durumun bradikininin ACE aracılı yıkımında artış sonucunda olabileceği belirtilmiştir (Kohlstedt et al., 2013). AICAR'ın spontan hipertansif sıçanlarda kan basıncını hızla düşürdüğü ancak

normotansif kontrollerde ise etki göstermediği bildirilmiştir (Ford et al., 2012). Obez sıçanlarda uzun süreli AICAR uygulaması sonucunda sistolik kan basıncında azalma görülmüştür (Buhl et al., 2002). Daha selektif bir AMPK aktivatörü olan A769662'nin direnç arterlerinde endotelden bağımsız gevşemeye neden olduğu belirlenmiştir (Schneider et al., 2015). AMPK- α 1 yoksun farelerde perivasküler adipöz doku kaynaklı antikontraktıl etkinin ortadan kalktığı ve bu durumun adiponektin salgısındaki azalma ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Almabrouk, Ugusman, Katwan, Salt, & Kennedy, 2016).

2.9. Potasyum Kanalları ve Vasküler Tonus

Küçük arterlerin ve arteriollerin duvarlarındaki vasküler düz kas hücrelerinin kasılma aktivitesi olan vasküler tonus kan akımına karşı direncin ana belirleyicisidir. Bu nedenle, vasküler tonus, kan basıncının düzenlenmesinde ve kan akımının vücudun dokuları ve organları içinde dağılımında önemli bir rol oynamaktadır. Sistemik dolaşımdaki vasküler düz kas hücrelerinin kasılma aktivitesinin düzenlenmesi, dolaşımdaki hormonlar, nörotransmitterler, endotelden türetilmiş faktörler ve kan basıncı gibi vazodilatatör ve vazokonstriktör uyarıların karmaşık etkileşimine bağlıdır. Tüm bu sinyaller, kas hücrelerinin kasılma aktivitesini ve dolayısıyla kan damarlarının çapını ve kan akımına direncini belirlemek için vasküler düz kas hücreleri tarafından entegre edilmektedir. İyon kanalları bu süreçte kilit bir rol oynamaktadır. Tüm kas hücreleri gibi, vasküler düz kas hücreleri de kasılma tetikleyicisi olarak Ca^{2+} kullanmaktadır. Plazma zarındaki kanallardan Ca^{2+} akışı ve hücre içi depolardan Ca^{2+} salımı sitoplazmik Ca^{2+} artışının ana kaynağıdır. Ek olarak, iyonların iyon kanalları boyunca hareketi membran potansiyelini belirlemektedir. Membran potansiyeli, sitozolik Ca^{2+} konsantrasyonu ile birlikte, iyon kanallarından Ca^{2+} salımını ve kasılma mekanizmasının Ca^{2+} 'a duyarlılığını düzenlemektedir. Vasküler düz kas hücrelerinin plazma membranlarında, tümü vasküler tonusun düzenlenmesinde rol alabilen, en az 5 farklı tipte K^+ kanalı, 2 tip voltaj kapılı Ca^{2+} kanalı, en az 2 tip Cl^- kanalı, depo kontrollü Ca^{2+} kanalları ve gerilerek aktive edilen katyon kanalları eksprese edilmektedir (Jackson, 2000; Tykocki, Boerman, & Jackson, 2017).

Potasyum kanallarından hücre dışına potasyum akışı membran potansiyelinin belirlenmesinde çok önemli bir faktördür. Bu nedenle potasyum kanalları vasküler tonus düzenlenmesinde kritik role sahiptir. Potasyum kanallarının aktive olması hiperpolarizasyona, inhibe olması ise depolarizasyona neden olmaktadır. Bu durum voltaj kapılı kalsiyum kanallarının açılıp kapanmasını kontrol ederek vasküler tonus üzerinde düzenleyici olarak işlev görmektedir (Jackson, 2000; Tykocki et al., 2017) (Şekil 9).



Şekil 9: Potasyum kanalları ve vasküler tonus (Verma et al., 2020). VLCC: voltaj kapılı L tipi kalsiyum kanalı

Membran potansiyelinin sadece voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarını düzenlemekle kalmadığı, aynı zamanda hücre içi depolardan IP_3 ile indüklenen Ca^{2+} salımını ve kontraktıl aparatın Ca^{2+} duyarlılığını da etkilediği bildirilmiştir (Ganitkevich, & Isenberg, 1993; Okada, Yanagisawa, & Taira, 1993). Böylece, membran potansiyelini belirlemedeki baskınlıkları nedeniyle, K^+ kanalları vasküler tonusun belirlenmesi ve düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. Vasküler düz kasta çeşitli K^+ kanalı sınıflarının işlevsel olduğu bildirilmiştir. Bunlardan başlıcaları ATP'ye duyarlı K^+ (K_{ATP}) kanalları, Ca^{2+} ile aktiflenen K^+ kanalları (büyük, orta ve küçük kondüktanslı), voltaja duyarlı K^+ (K_V) kanalları, 2 porlu K^+ (K_{2P}) kanalları ve içeri doğrultucu K^+ (K_{IR}) kanallarıdır (Jackson, 2000; Tykocki et al., 2017).

Potasyum kanallarının önemli bir alt tipi olan BK_{Ca} kanalları çoğu hücrede bulunmaktadır (Jackson, 2000). Bu kanallar, hücre içi Ca^{2+} artışı ve membran depolarizasyonu ile aktive edilmektedir (Carl, Lee, & Sanders, 1996). Miyojenik

tonus gösteren küçük arterlerde, BK_{Ca} kanallarının aktivitesinin, istirahat membran potansiyeline katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Jackson, 2000). Bu kanalların iberiotoksin veya tetraetil amonyum (TEA) ile inhibe edilmesi membran depolarizasyonuna ve vazokonstriksiyona yol açmaktadır (Brayden, & Nelson, 1992; Nelson et al., 1995). BK_{Ca} kanallarının, sarkoplazmik retikulumdan ryanodin kanal reseptörleri yoluyla salınan Ca²⁺ aracılığıyla sarkolemmal Ca²⁺ miktarındaki fokal artışlara bağlı olarak vasküler tonusun düzenlenmesinde merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir (Jaggar et al., 1998; Knot, Standen, & Nelson, 1998; Nelson et al., 1995).

Mikrosirkülasyondaki dinlenim miyojenik tonusunda BK_{Ca} kanallarının rol almadığı ileri sürülmektedir (Jackson, 2000). İberiotoksin veya TEA uygulamasının *in vivo* koşullardaki dinlenim arteriolar çapı üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (Jackson, & Blair, 1998; Loeb, Gšdény, & Longnecker, 2000; Paterno, Faraci, & Heistad, 1996). Her iki ajanın da *in vitro* olarak tek bir hücredeki membran potansiyelini veya K⁺ akımını etkilemediği gösterilmiştir. Bu belirgin BK_{Ca} kanal aktivitesi eksikliğinin hücrelerin zarlarında bulunan kanalların yüksek bir kalsiyum eşiğine sahip olması nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (Jackson, 2000). Gevşemiş hücrelerde fizyolojik membran potansiyeli aralığında (-60 ila 30 milivolt) kanal aktivitesi için 3 ila 10 µM düzeyinde yüksek bir Ca²⁺ seviyesi gereklidir. Yüksek eşiklerine rağmen bu kanallar mikrosirkülasyonda NE ve yüksek oksijen düzeyi gibi etkenler ile oluşan aktif vazokonstriksiyon sırasında etkinleşebilmektedir (Jackson, & Blair, 1998). Bu nedenle, BK_{Ca} kanallarının aktif vazokonstriksiyonu sınırlamak ve vazospazmı önlemek için negatif bir geri besleme rolü oynadığı düşünülmektedir. Ek olarak, bu kanalların cGMP ve cAMP kaskadları yoluyla etki gösteren vazodilatatörler, araşidonik asidin epoksidi ve karbonmonoksit aracılığıyla aktive edilebildiği bildirilmiştir (Campbell, Gebremedhin, Pratt, & Harder, 1996; Nelson, & Quayle, 1995; Paterno et al., 1996; Wang, Wang, & Wu, 1997). Bu kanallar, sitokrom P450_{4a} tarafından üretilen 20-OH araşidonik asit ile kapatılabilmektedir (Lange, Gebremedhin, Narayanan, & Harder, 1997). Vazodilatatör veya vazokonstriktör etkenler Ca²⁺ akımının sıklığını ve genliğini etkileyerek BK_{Ca} kanal aktivitesini değiştirebilmektedir (Jackson, 2000). Hipertansiyon durumunda vasküler düz kas membranlarında BK_{Ca} kanallarının

ekspresyonunun arttığı belirlenmiş ve bu durumun hipertansiyonda gözlenen artmış vasküler reaktiviteye karşın negatif bir geri bildirim yanıtı olarak ortaya çıktığı öne sürülmüştür. Bu nedenle, BK_{Ca} kanallarının hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda vasküler tonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Jackson, 2000; Liu, Pleyte, Knaus, & Rusch, 1997; Rusch, & Liu, 1997).

Vasküler düz kas hücreleri tarafından eksprese edilen başka bir yaygın K⁺ kanalı sınıfı 4-aminopiridin tarafından inhibe edilen K_V kanallarıdır. Bu kanallar, aktivasyon için 30 mV'lik önemli bir eşik potansiyeli olan membran depolarizasyonu ile aktive edilmektedir. Çeşitli arterler ve arteriollerden izole edilen vasküler düz kas hücrelerinde yapılan çalışmalar, bu kanalların dinlenim membran potansiyeli ve vasküler tonusun düzenlenmesine katılabileceğine dair kanıtlar sağlamıştır. K_V kanalları, hem vazodilatatörlerin hem de vazokonstriktörlerin etki mekanizmasında rol alabilmektedir. cAMP sinyal kaskadı aracılığıyla etkinlik gösteren vazodilatatörler bu kanalları açabilmektedir. Vazokonstriktörler, yüksek hücre içi Ca²⁺ ve PKC'yi içeren mekanizmalarla K_V kanallarını kapatabilmektedir (Jackson, 2000; Nelson, & Quayle, 1995).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Genel Bilgiler

Bu çalışmaya Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 03.04.2019 tarihli ve 2019-04/11 numaralı onay alınarak başlanmıştır. Çalışmada Bursa Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 50 adet 12 haftalık *Wistar Albino* erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar bir kafeste 4-6 adet olacak şekilde, 22±2 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde tutulmuş ve *ad libitum* olarak yem/su alımı sağlanmıştır. Bir sıçanın torasik aortundan 4 adet damar halkası elde edilmiştir (n=4). Her bir deney grubu için n=8 sağlanmıştır. Gruplardaki denek sayısı güç analizi ve benzer çalışmalar dikkate alınarak belirlenmiştir.

3.2. İzole Organ Banyosu Yöntemi

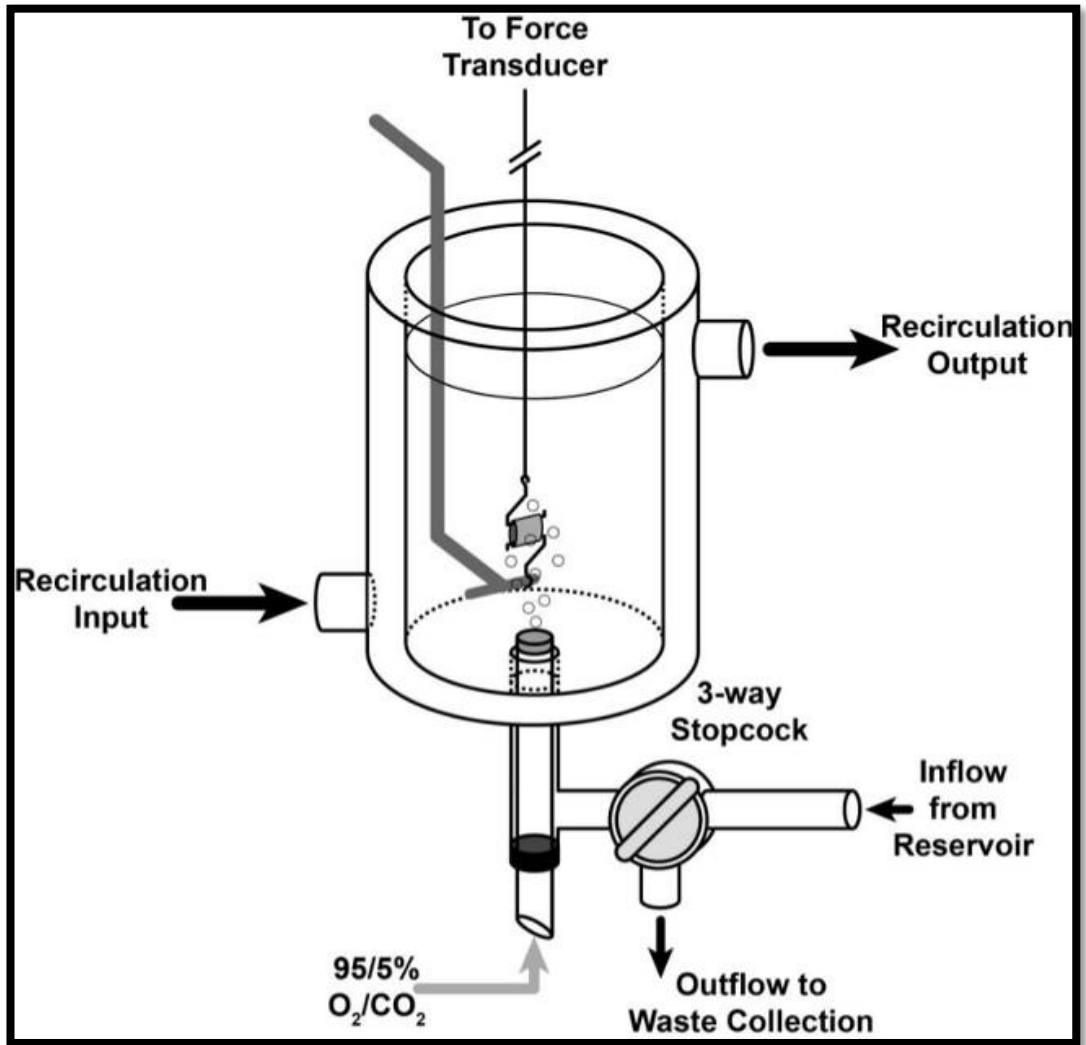
İzole organ banyosu yöntemi 100 yılı aşkın süredir endojen ve eksojen maddelerin *in vitro* koşullarda düz kas kasılmasına etkisinin araştırıldığı, objektif sonuçlar veren, yaygın olarak kullanılan ve güncelliğini koruyan güvenilir bir yöntemdir. Özellikle nispeten büyük damarlardaki kasılma ve gevşeme yanıtlarının araştırılması için oldukça uygundur (Jespersen, Tykocki, Watts, & Cobbett, 2015). Güncel olarak izole organ banyosu sistemi çift çeperli banyo hazneleri, sıvı ve gaz taşıma boruları, izometrik kuvvet transdüseri, termosirkülator, oksijen (O₂)-karbondioksit (CO₂) karışım tüpü, amplifikatör ile kayıt ve analiz ünitesinden oluşmaktadır (Şekil 10). Termosirkülator içerisinde bulunan distile suyu istenilen sıcaklığa ayarlayarak izole organ banyosunun kanal sisteminde ve çift çeperli bölümlerinde dolaştırmaktadır. Bu sayede, banyo haznelerin içerisindeki Krebs çözeltisinin ısınması ve doku için uygun sıcaklıkta kalması sağlanmaktadır. Termosirkülator normal vücut iç sıcaklığı olan 37 °C'ye ayarlanmaktadır. Deney

boyunca banyo haznelerinin alt bölgesindeki girişten % 95 O₂-% 5 CO₂ karışımıyla haznelerdeki Krebs çözeltisi sürekli olarak gazlandırılmakta ve pH 7,4 olarak ayarlanmaktadır. Banyo haznelerindeki Krebs çözeltisi metabolik son ürünlerin birikimini önlemek için, çalışılan doku tipine göre değişmekle birlikte, 10 ila 30 dakikada bir yenilenmektedir. İzometrik kuvvet transdüseri haznelerdeki düzeneğe yerleştirilmiş olan dokularda oluşan izometrik kasılma ve gevşemelerden kaynaklanan gerim değişikliklerini algılayarak elektriksel sinyallere çevirmektedir. Bu sinyaller amplifikatör aracılığı ile büyütülmekte ve kayıt ünitesine aktararak kaydedilmektedir. Bu kayıtlar daha sonra analiz edilerek her bir örnekteki etken madde uygulamasından önce ve/veya sonra ortaya çıkan kasılma parametreleri belirlenmektedir.

3.3. İzole Organ Banyosu Deneyleri

Anestezisiz olarak dekapite edilen sıçanların torakoabdominal bölgeleri açılarak, torasik aortları hızlı bir şekilde çıkarılmıştır. Torasik aort dokuları, içinde buz gibi soğuk Krebs çözeltisi bulunan petri kaplarına alınmıştır. Perivasküler dokulardan dikkatli bir şekilde arındırılan damarlardan 4 mm uzunlukta damar halkaları hazırlanmıştır. Damar halkaları, cerrahi iplik ve damar asma aparatları kullanılarak izole organ banyosu sistemi (*MAY IOBS99, Commat Ltd., Ankara*) içerisindeki cam haznelerde bulunan düzeneğe yerleştirilmiştir. Hazneler Krebs çözeltisi ile doldurularak dokuların beslenmesi sağlanmıştır. Çift çeperli sistem içerisinde dolaşan sıcak su ile sıcaklık 37 °C olarak sabit tutulmuştur. Dokuları besleyen Krebs çözeltisi % 95 O₂-% 5 CO₂ gaz karışımı ile sürekli olarak gazlandırılmış ve pH 7,4 olarak ayarlanmıştır. Dokuların asılmasından sonraki ilk 30 dakikanın ardından dinlenim gerimi 2 gram olarak ayarlanmıştır. Bunun sonrasında dokuların ortama uyum göstermesi için 1 saat daha beklenmiştir. Bu süreçte haznelerdeki Krebs çözeltisi her 15 dakikada bir yenilenmiştir. Sonrasında etken ve inhibitör madde uygulamalarına geçilmiştir. Etken ve inhibitör madde uygulamaları ayarlanabilir otomatik pipet kullanılarak, hassas bir şekilde Krebs çözeltisi içerisine yapılmıştır. İnhibitör maddeler fenilefrinden 20 ila 30 dakika önce uygulanmıştır (Mughal et al., 2018b). Etken maddeler damar gerimi plato evresine ulaştığında uygulanmıştır (Katugampola et al., 2001). Damar halkalarında meydana gelen

izometrik kasılma ve gevşemelere bağlı oluşan gerim değişiklikleri kuvvet transdüseri (*MAY FDT05*) aracılığı ile algılanmış ve bilgisayar yazılımı (*BIOPAC MP36*) vasıtasıyla kaydedilmiştir (Jespersen et al., 2015). Çalışmamızda sıçan torasik aortu kullanılan vasküler kontraktilite çalışmalarında sıklıkla tercih edildiğinden damar kasıcı ajan olarak fenilefrin kullanılmıştır. Fenilefrin ile oluşturulan plato gerimi % 100 olarak kabul edilmiş ve bu değer üzerinden etken maddelerle oluşturulan gerim değerleri hesaplanmıştır. Her bir deneyin öncesinde izometrik kuvvet transdüserlerinin kalibrasyonu yapılmıştır.



Şekil 10: İzole organ banyosu düzeneği (Jespersen et al., 2015). CO₂: karbondioksit, O₂: oksijen

3.4. Deney Grupları

3.4.1. Apelin ile İlişkili Gruplar

1. grup (kontrol): Fenilefrin ile kasılan sıçan torasik aort gerimine [Pyr1]apelin-13'ün çözücüsü olan distile suyun etkisi araştırılmıştır. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları 1 saatlik dengelenme periyodu sonrasında 10^{-5} M fenilefrin ile kasılmıştır. Gerim platoya ulaştıktan sonra distile su (10 µl) uygulanmıştır.

2. grup: Fenilefrin ile kasılan sıçan torasik aort gerimine [Pyr1]apelin-13'ün etkisi araştırılmıştır. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları 1 saatlik dengelenme periyodu sonrasında 10^{-5} M fenilefrin ile kasılmıştır. Gerim platoya ulaştıktan sonra 10^{-9} - 10^{-6} M (4 doz) [Pyr1]apelin-13 kümülatif olarak uygulanmıştır.

3. grup: Apelinin etki mekanizmasında APJ'nin rolü araştırılmıştır. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları 1 saatlik dengelenme periyodu sonrasında 10^{-7} M F13A varlığında 10^{-5} M fenilefrin ile kasılmıştır. Gerim platoya ulaştıktan sonra 10^{-9} - 10^{-6} M [Pyr1]apelin-13 kümülatif olarak uygulanmıştır.

4. grup: Apelinin etki mekanizmasında eNOS/NO yolağının rolü araştırılmıştır. İnhibitör madde olarak eNOS inhibitörü L-NAME (10^{-3} M) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

5. grup: Apelinin etki mekanizmasında MAPK yolağının rolü araştırılmıştır. İnhibitör madde olarak MEK 1-2 inhibitörü U0126 (1,5 µM) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

6. grup: Apelinin etki mekanizmasında COX yolağının rolü araştırılmıştır. İnhibitör madde olarak COX inhibitörü indometazin (5 µM) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

7. grup: Apelinin etki mekanizmasında AMPK yolağının rolü araştırılmıştır. İnhibitör madde olarak AMPK inhibitörü dorsomorfin (10 µM) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

8. grup: Apelinin etki mekanizmasında potasyum kanallarının rolü araştırılmıştır. İnhibitör madde olarak potasyum kanal inhibitörü TEA (10 mM) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

9. grup (*vehicle*): Fenilefrin ile kasılan sıçan torasik aort gerimine indometazin, dorsomorfin ve U0126'nın çözücüsü olan dimetil sülfoksit (DMSO)'in etkisi araştırılmıştır. İnhibitör madde yerine çözücü konsantrasyonunda DMSO (10 µl) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

3.4.2. Elabela ile İlişkili Gruplar

1. grup (kontrol): Fenilefrin ile kasılan sıçan torasik aort gerimine Ela-32'nin çözücüsü olan distile suyun etkisi araştırılmıştır. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları 1 saatlik dengelenme periyodu sonrasında 10^{-5} M fenilefrin ile kasılmıştır. Gerim platoya ulaştıktan sonra distile su (10 µl) uygulanmıştır.

2. grup: Fenilefrin ile kasılan sıçan torasik aort gerimine Ela-32'nin etkisi araştırılmıştır. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları 1 saatlik dengelenme periyodu sonrasında 10^{-5} M fenilefrin ile kasılmıştır. Gerim platoya ulaştıktan sonra 10^{-9} - 10^{-7} (3 doz) M Ela-32 kümülatif olarak uygulanmıştır.

3. grup: Elabelanın etki mekanizmasında APJ'nin rolü araştırılmıştır. Organ banyosuna yerleştirilen aort halkaları 1 saatlik dengelenme periyodu sonrasında 10^{-7} M F13A varlığında 10^{-5} M fenilefrin ile kasılmıştır. Gerim platoya ulaştıktan sonra 10^{-9} - 10^{-7} M Ela-32 kümülatif olarak uygulanmıştır.

4. grup: Elabelanın etki mekanizmasında eNOS/NO yolağının rolü araştırılmıştır. İnhibitör madde olarak eNOS inhibitörü L-NAME (10^{-3} M) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

5. grup: Elabelanın etki mekanizmasında MAPK yolağının rolü araştırılmıştır. İnhibitör madde olarak MEK 1-2 inhibitörü U0126 (1,5 µM) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

6. grup: Elabelanın etki mekanizmasında COX yolağının rolü araştırılmıştır. İnhibitör madde olarak COX inhibitörü indometazin (5 µM) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

7. grup: Elabelanın etki mekanizmasında AMPK yolağının rolü araştırılmıştır. İnhibitör madde olarak AMPK inhibitörü dorsomorfin (10 µM) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

8. grup: Elabelanın etki mekanizmasında potasyum kanallarının rolü araştırılmıştır. İnhibitör madde olarak potasyum kanal inhibitörü TEA (10 mM) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

9. grup (*vehicle*): Fenilefrin ile kasılan sıçan torasik aort gerimine indometazin, dorsomorfin ve U0126'nın çözücüsü olan DMSO'nun etkisi araştırılmıştır. İnhibitör madde yerine çözücü konsantrasyonunda DMSO (10 µl) kullanılmış ve yukarıdaki protokol tekrarlanmıştır.

3.5. İlaçlar

Çalışmamızda kullanılan Ela-32 Tocris'ten, diğer kimyasal maddeler ise Sigma Aldrich/Merck grubundan temin edilmiştir. Tüm etken ve inhibitör madde dozları literatüre uygun olarak belirlenmiştir (Maguire et al., 2009; Mughal et al., 2018a; Mughal et al., 2018b; Perjés et al., 2016; Salcedo et al., 2007). [Pyr1]apelin-13 distile su içerisinde çözülmüş ve 10^{-9} - 10^{-6} M dozda (4 doz) uygulanmıştır (Katugampola et al., 2001; Maguire et al., 2009). Ela-32 distile su içerisinde çözülmüş ve 10^{-9} - 10^{-7} M dozda (3 doz) uygulanmıştır (Wang et al., 2015). İndometazin, dorsomorfin ve U0126 kullanma talimatlarına uygun olarak DMSO içerisinde çözülmüştür. Fenilefrin, F13A, TEA ve L-NAME kullanma talimatlarına uygun olarak distile su içerisinde çözülmüştür. Çalışmamızda kullanılan inhibitör maddeler ve kullanım amaçları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2: İnhibitör maddelerin kullanım amacı.

Madde	Kullanım amacı
F13A	APJ reseptör antagonisti
L-NAME	eNOS inhibitörü
U0126	MEK (MAPK kinaz) 1-2 inhibitörü
İndometazin	COX 1-2 inhibitörü
Dorsomorfin	AMPK inhibitörü
TEA	Potasyum kanal inhibitörü

3.6. Krebs Çözeltisi

Krebs çözeltisi *in vivo* ortamdaki fizyolojik şartları *in vitro* koşullarda da belli ölçülerde sağlayan bir çözeltilidir. İçeriği itibarıyla düz kas dokularının canlılıklarını ve kasılabilirlik özelliklerini optimal düzeyde sürdürebilmelerine imkan sağlamaktadır. Çalışmamızda kullanılan Krebs çözeltisi manyetik karıştırıcı yardımıyla günlük olarak hazırlanmış ve kullanılıncaya dek buzdolabında tutulmuştur (Gurzu et al., 2006; Salcedo et al., 2007) (Tablo 3).

Tablo 3: Krebs çözeltisi.

Madde	Molarite (mM)
CaCl ₂ ·2H ₂ O	2.5
NaCl	118
KCl	4.8
KH ₂ PO ₄	1.2
GlukozH ₂ O	11
NaHCO ₃	25
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.2

3.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. İstatistiksel analiz için *IBM SPSS Statistics 23* programı kullanılmıştır. Çoklu gruplar arasındaki karşılaştırmalar için Tek Yönlü Varyans Analizi (*One-Way ANOVA*) yapılmış ve ardından *post hoc* olarak *Games-Howell* testi uygulanmıştır. İki grubun karşılaştırılması için Bağımsız Örneklem T Testi (*Independent-Samples T Test*) uygulanmıştır. Analizler sonucunda 0.05'ten küçük olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

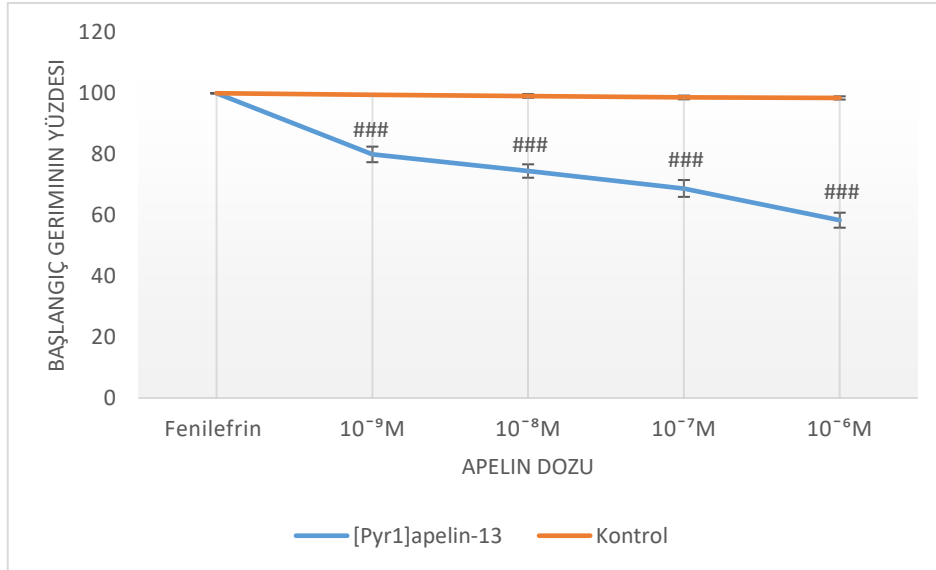
4. BULGULAR

4.1. Apelinin Sıçan Torasik Aort Gerimine Etkisi

Kontrol ve [Pyr1]apelin-13 gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. [Pyr1]apelin-13 grubundaki yüzde gerim değerlerinin kontrol grubuna kıyasla tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 4). [Pyr1]apelin-13 fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde vazodilatatör etki göstermiştir (Şekil 11).

Tablo 4: Kontrol ve [Pyr1]apelin-13 gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	Kontrol	[Pyr1]apelin-13	İstatistik
10 ⁻⁹ M	99,46±0,20	79,93±2,56	p<0,001
10 ⁻⁸ M	99,12±0,61	74,48±2,20	p<0,001
10 ⁻⁷ M	98,62±0,62	68,76±2,76	p<0,001
10 ⁻⁶ M	98,46±0,53	58,34±2,46	p<0,001



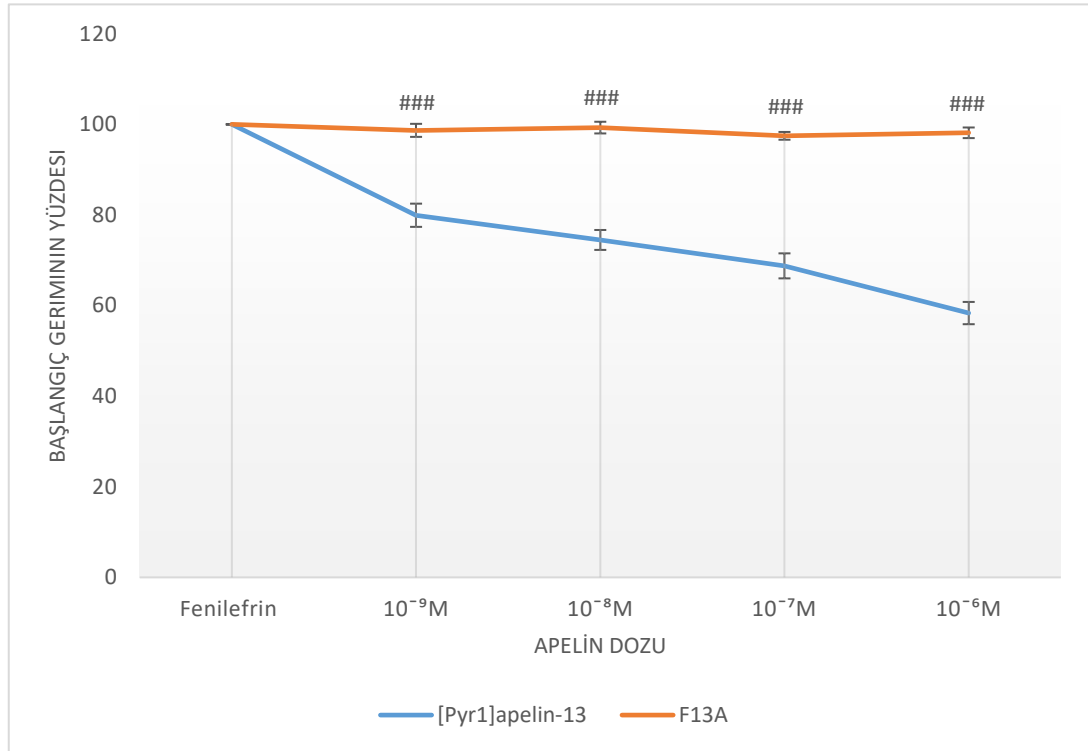
Şekil 11: [Pyr1]apelin-13'ün vazodilatatör etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. [Pyr1]apelin-13 grubundaki yüzde gerim değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur. Her grupta n=8. ###: p<0,001

4.2. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında APJ'nin Rolü

[Pyr1]apelin-13 ve F13A gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. F13A grubundaki yüzde gerim değerlerinin [Pyr1]apelin-13 grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 5). APJ inhibisyonu sonrasında [Pyr1]apelin-13'ün fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (Şekil 12).

Tablo 5: [Pyr1]apelin-13 ve F13A gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	[Pyr1]apelin-13	F13A	İstatistik
10^{-9} M	79,93±2,56	98,67±1,44	p<0,001
10^{-8} M	74,48±2,20	99,28±1,29	p<0,001
10^{-7} M	68,76±2,76	97,46±0,86	p<0,001
10^{-6} M	58,34±2,46	98,13±1,17	p<0,001



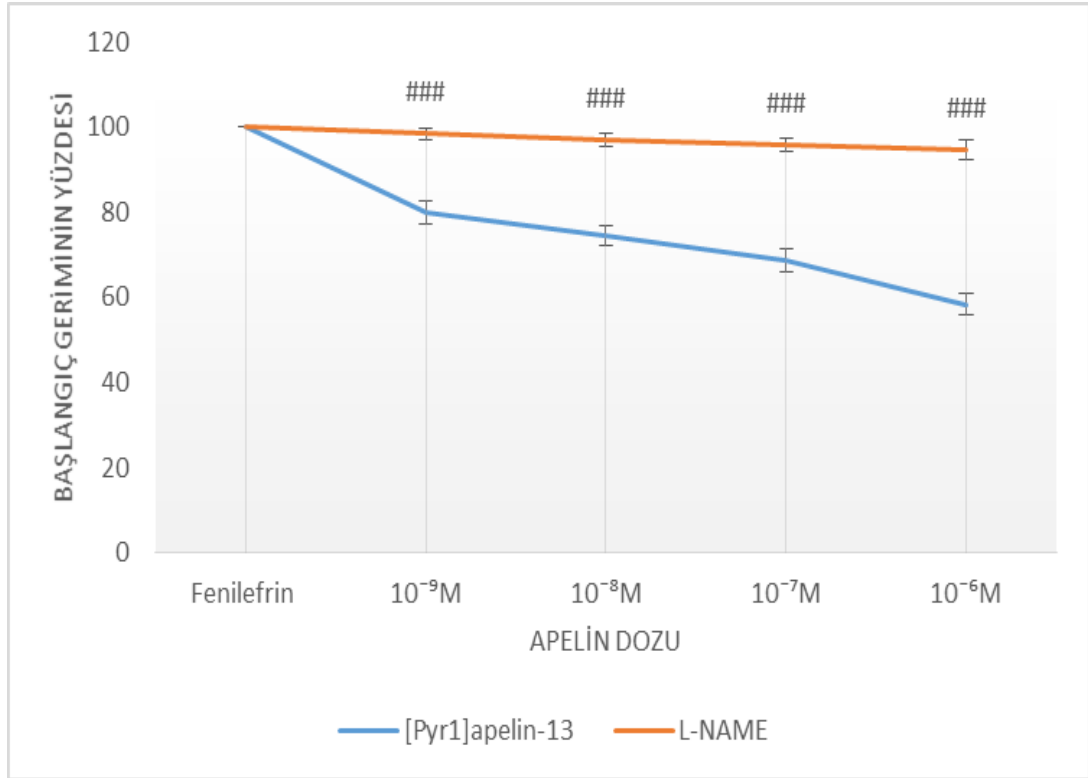
Şekil 12: [Pyr1]apelin-13'ün vazodilatatör etkinliği üzerine APJ inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. F13A uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri [Pyr1]apelin-13 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Her grupta n=8. ###: p<0,001

4.3. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında eNOS/NO Yolağının Rolü

[Pyr1]apelin-13 ve L-NAME gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. L-NAME grubundaki yüzde gerim değerlerinin [Pyr1]apelin-13 grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 6). eNOS inhibisyonu sonrasında [Pyr1]apelin-13'ün fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (Şekil 13).

Tablo 6: [Pyr1]apelin-13 ve L-NAME gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	[Pyr1]apelin-13	L-NAME	İstatistik
10^{-9} M	79,93±2,56	98,35±1,27	p<0,001
10^{-8} M	74,48±2,20	96,90±1,42	p<0,001
10^{-7} M	68,76±2,76	95,80±1,69	p<0,001
10^{-6} M	58,34±2,46	94,56±2,31	p<0,001



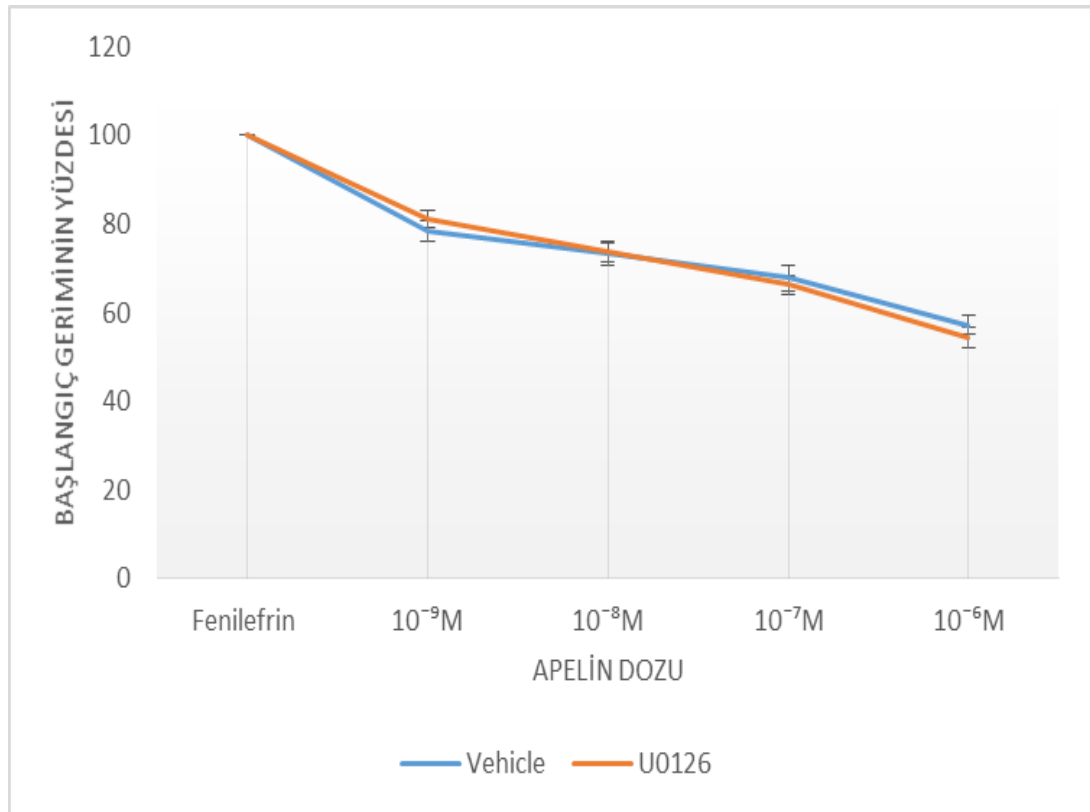
Şekil 13: [Pyr1]apelin-13'ün vazodilatatör etkinliği üzerine eNOS inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. L-NAME uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri [Pyr1]apelin-13 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Her grupta n=8. ###: p<0,001

4.4. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında MAPK Yolağının Rolü

Vehicle ve U0126 gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. U0126 grubundaki yüzde gerim değerleri ile *Vehicle* grubundaki yüzde gerim değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark belirlenmemiştir (Tablo 7). MAPK inhibisyonu sonrasında [Pyr1]apelin-13'ün fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişiklik olmamıştır (Şekil 14).

Tablo 7: *Vehicle* ve U0126 gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	<i>Vehicle</i>	U0126	İstatistik
10^{-9} M	78,45±2,26	81,27±1,92	p>0,05
10^{-8} M	73,19±2,43	73,73±2,43	p>0,05
10^{-7} M	67,84±2,87	66,31±2,16	p>0,05
10^{-6} M	57,16±2,08	54,40±2,31	p>0,05



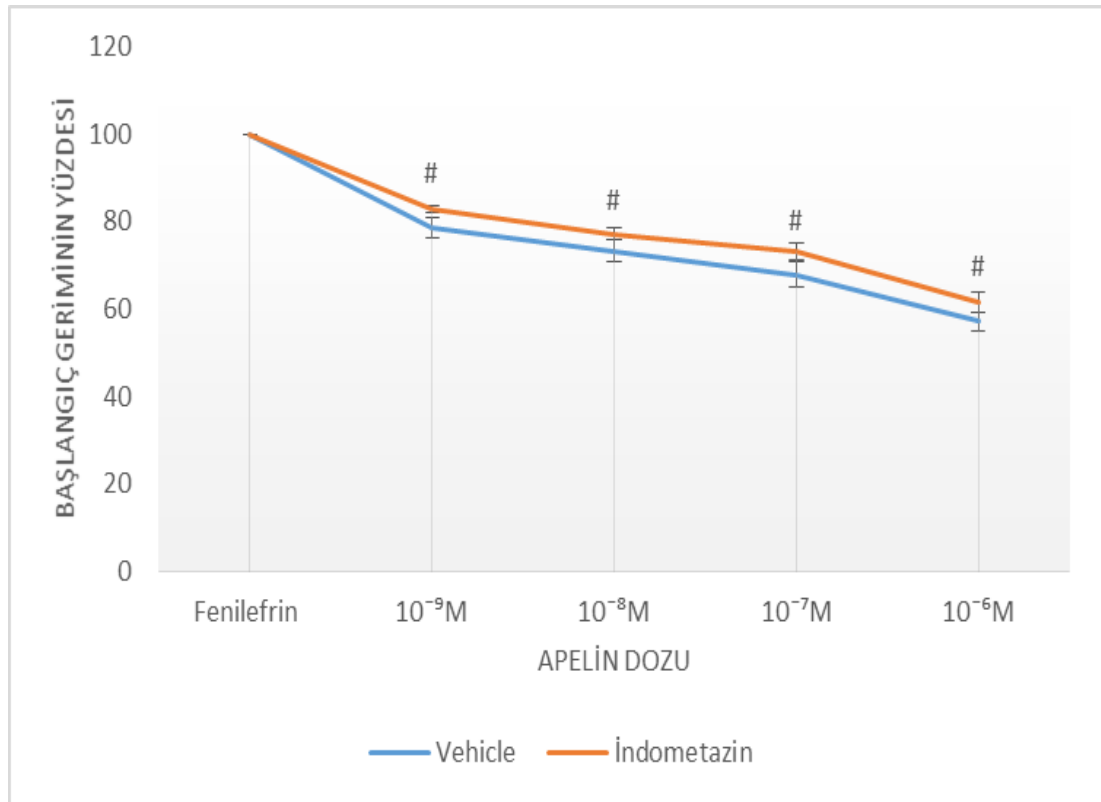
Şekil 14: [Pyr1]apelin-13'ün vazodilatatör etkinliği üzerine MAPK inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. U0126 uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri ile *vehicle* grubunun yüzde gerim değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Her grupta n=8.

4.5. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında COX Yolağının Rolü

Vehicle ve İndometazin gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. İndometazin grubundaki yüzde gerim değerlerinin *Vehicle* grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 8). COX inhibisyonu sonrasında [Pyr1]apelin-13'ün fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (Şekil 15).

Tablo 8: *Vehicle* ve İndometazin gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	<i>Vehicle</i>	İndometazin	İstatistik
10^{-9} M	78,45±2,26	82,64±0,74	p<0,05
10^{-8} M	73,19±2,43	77,16±1,46	p<0,05
10^{-7} M	67,84±2,87	72,98±1,92	p<0,05
10^{-6} M	57,16±2,08	61,57±2,26	p<0,05



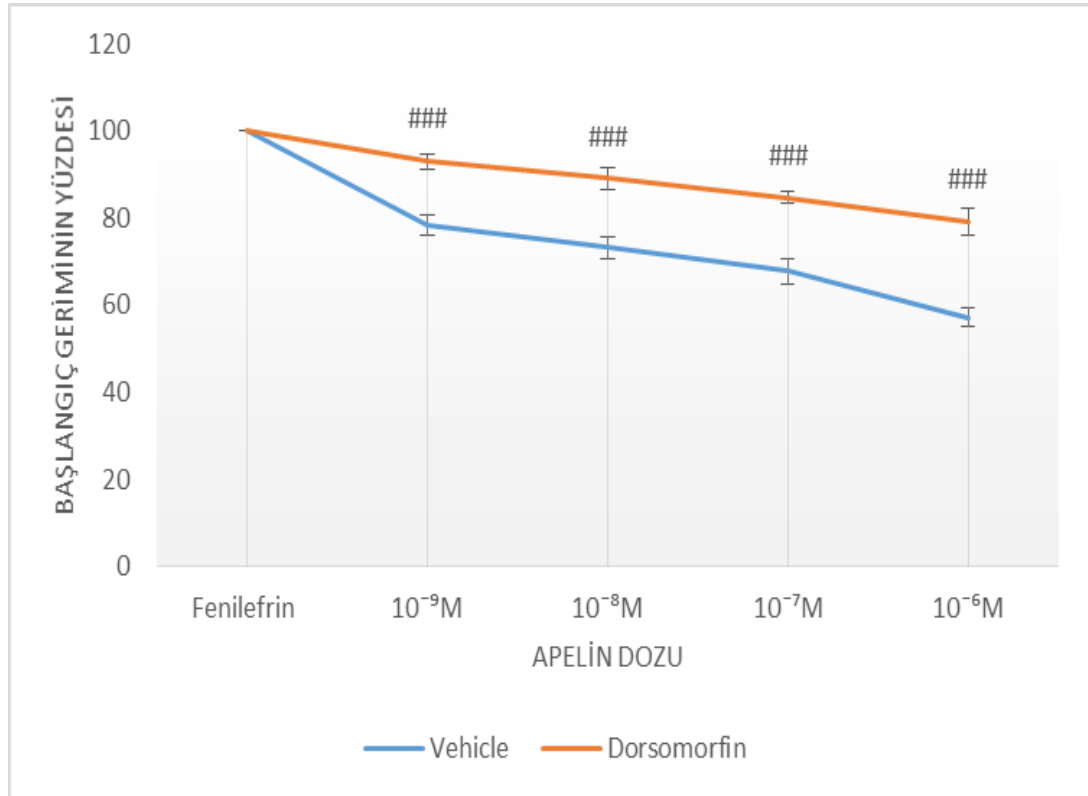
Şekil 15: [Pyr1]apelin-13'ün vazodilatatör etkinliği üzerine COX inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. İndometazin uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri *vehicle* grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Her grupta n=8. #: p<0,05

4.6. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında AMPK Yolağının Rolü

Vehicle ve Dorsomorfin gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. Dorsomorfin grubundaki yüzde gerim değerlerinin *Vehicle* grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 9). AMPK inhibisyonu sonrasında [Pyr1]apelin-13'ün fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (Şekil 16).

Tablo 9: *Vehicle* ve Dorsomorfin gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	<i>Vehicle</i>	Dorsomorfin	İstatistik
10^{-9} M	78,45±2,26	93,00±1,83	p<0,001
10^{-8} M	73,19±2,43	89,04±2,46	p<0,001
10^{-7} M	67,84±2,87	84,75±1,47	p<0,001
10^{-6} M	57,16±2,08	79,00±3,11	p<0,001



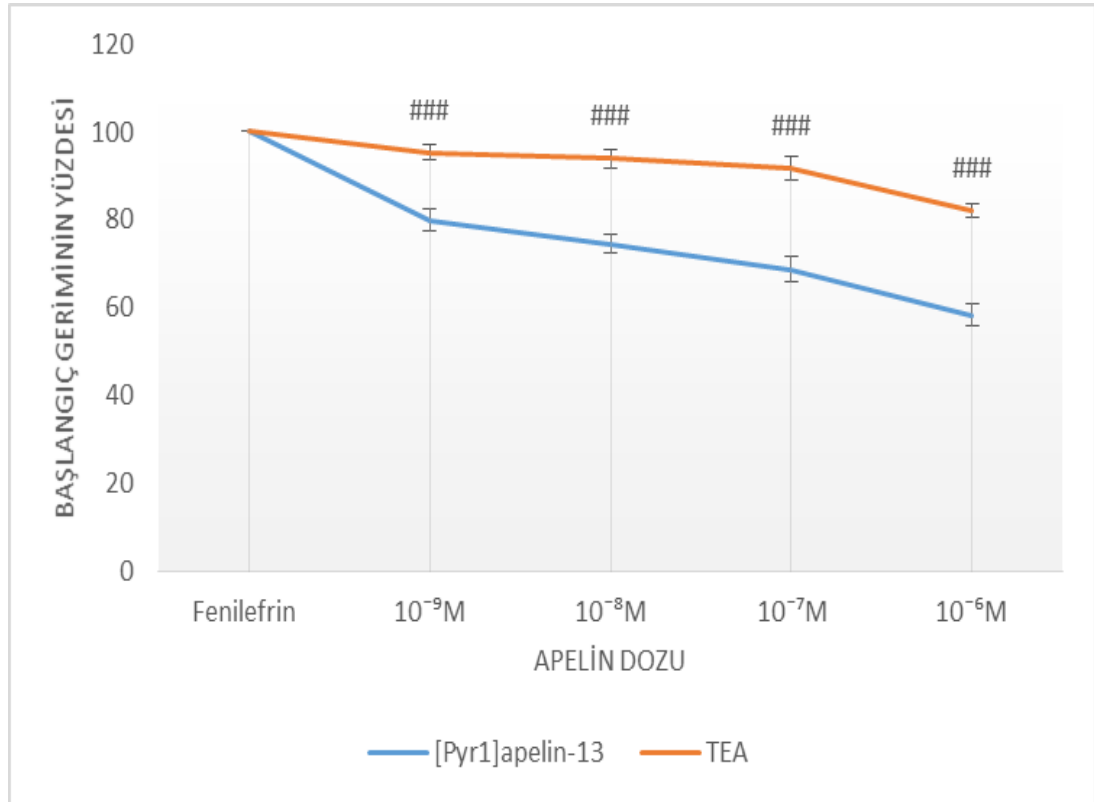
Şekil 16: [Pyr1]apelin-13'ün vazodilatatör etkinliği üzerine AMPK inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Dorsomorfin uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri *vehicle* grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Her grupta n=8. ###: p<0,001

4.7. Apelinin Vazodilatatör Etki Mekanizmasında Potasyum Kanallarının Rolü

[Pyr1]apelin-13 ve TEA gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. TEA grubundaki yüzde gerim değerlerinin [Pyr1]apelin-13 grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 10). Potasyum kanal inhibisyonu sonrasında [Pyr1]apelin-13'ün fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (Şekil 17).

Tablo 10: [Pyr1]apelin-13 ve TEA gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	[Pyr1]apelin-13	TEA	İstatistik
10^{-9} M	79,93±2,56	95,33±1,86	p<0,001
10^{-8} M	74,48±2,20	93,91±2,03	p<0,001
10^{-7} M	68,76±2,76	91,63±2,71	p<0,001
10^{-6} M	58,34±2,46	82,08±1,65	p<0,001



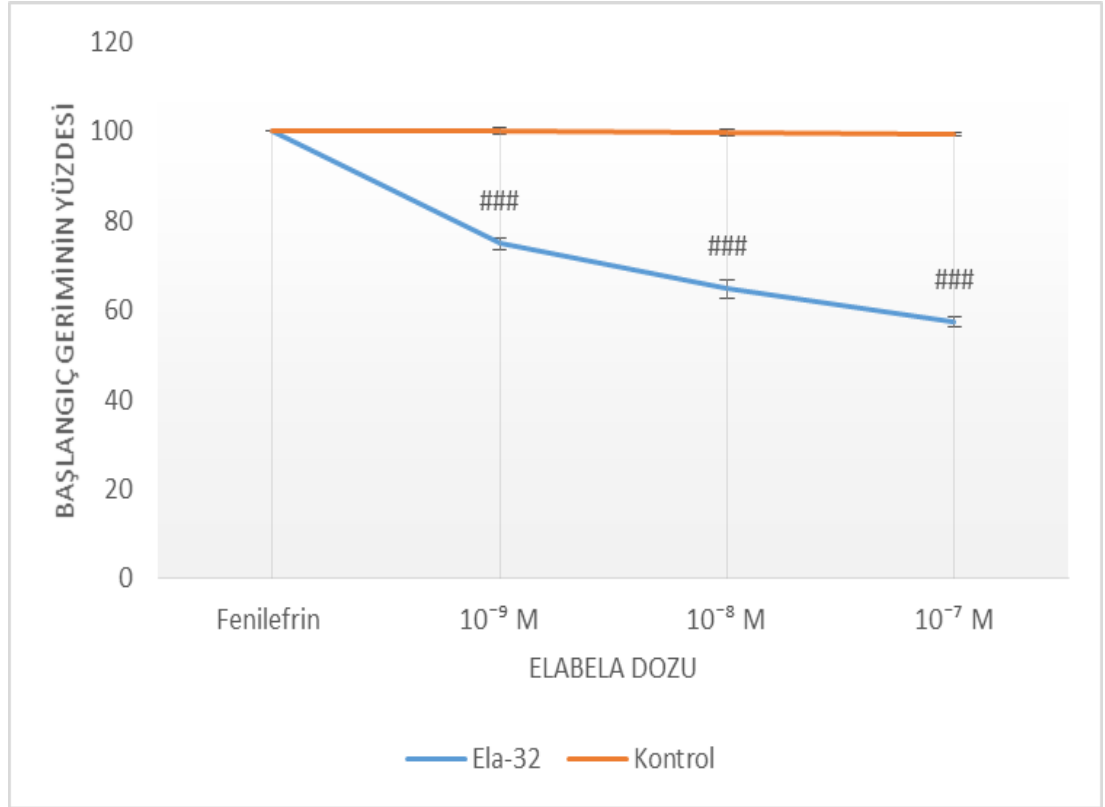
Şekil 17: [Pyr1]apelin-13'ün vazodilatatör etkinliği üzerine potasyum kanal inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. TEA uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri [Pyr1]apelin-13 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Her grupta n=8. ###: p<0.001

4.8. Elabelanın Sıçan Torasik Aort Gerimine Etkisi

Kontrol ve Ela-32 gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. Ela-32 grubundaki yüzde gerim değerlerinin kontrol grubuna kıyasla tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 11). Ela-32 fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde vazodilatör etki göstermiştir (Şekil 18).

Tablo 11: Kontrol ve Ela-32 gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	Kontrol	Ela-32	İstatistik
10^{-9} M	99,92±0,72	74,94±1,30	p<0,001
10^{-8} M	99,66±0,82	64,76±1,96	p<0,001
10^{-7} M	99,26±0,44	57,25±1,12	p<0,001



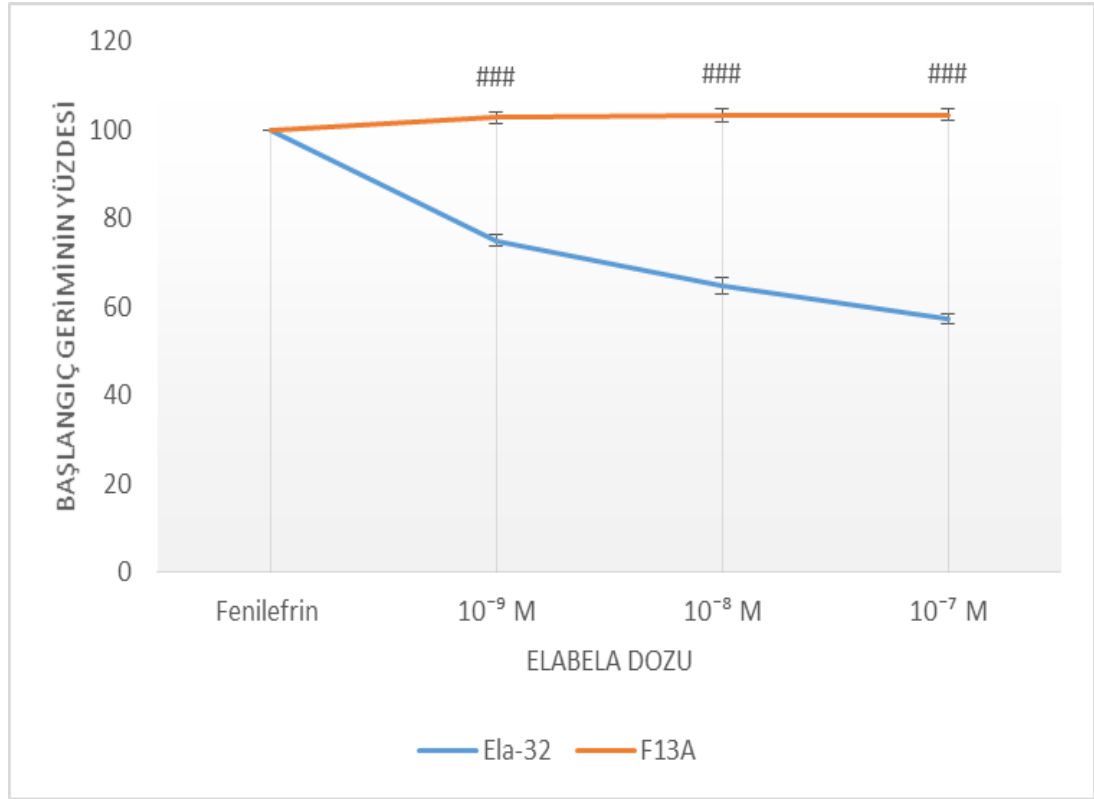
Şekil 18: Ela-32'nin vazodilatör etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Ela-32 grubundaki yüzde gerim değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur. Her grupta n=8. ###: p<0,001

4.9. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında APJ'nin Rolü

Ela-32 ve F13A gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. F13A grubundaki yüzde gerim değerlerinin Ela-32 grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 12). APJ inhibisyonu sonrasında Ela-32'nin fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (Şekil 19).

Tablo 12: Ela-32 ve F13A gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	Ela-32	F13A	İstatistik
10^{-9} M	74,94±1,30	102,71±1,20	p<0,001
10^{-8} M	64,76±1,96	103,35±1,44	p<0,001
10^{-7} M	57,25±1,12	103,42±1,22	p<0,001



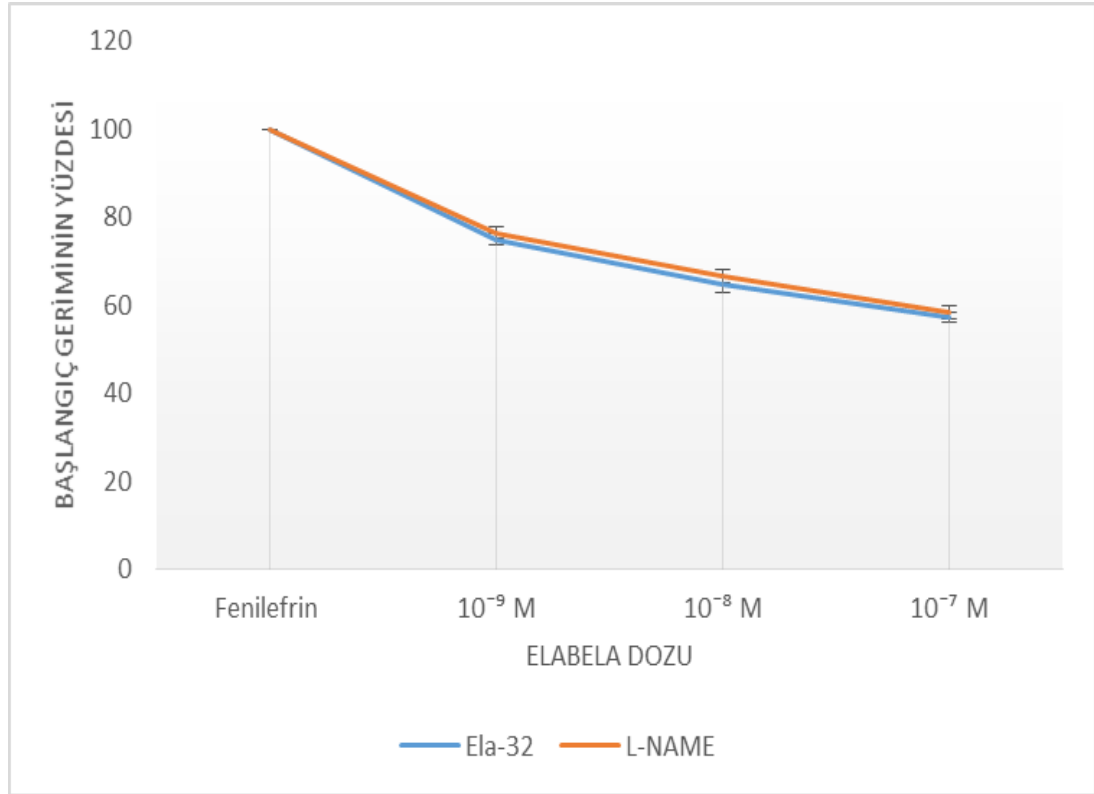
Şekil 19: Ela-32'nin vazodilatatör etkinliği üzerine APJ inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. F13A uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri Ela-32 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Her grupta n=8. ###: p<0,001

4.10. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında eNOS/NO Yolağının Rolü

Ela-32 ve L-NAME gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. L-NAME grubundaki yüzde gerim değerleri ile Ela-32 grubundaki yüzde gerim değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark belirlenmemiştir (Tablo 13). eNOS inhibisyonu sonrasında Ela-32'nin fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişiklik olmamıştır (Şekil 20).

Tablo 13: Ela-32 ve L-NAME gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	Ela-32	L-NAME	İstatistik
10^{-9} M	74,94±1,30	76,42±1,24	p>0,05
10^{-8} M	64,76±1,96	66,57±1,60	p>0,05
10^{-7} M	57,25±1,12	58,40±1,53	p>0,05



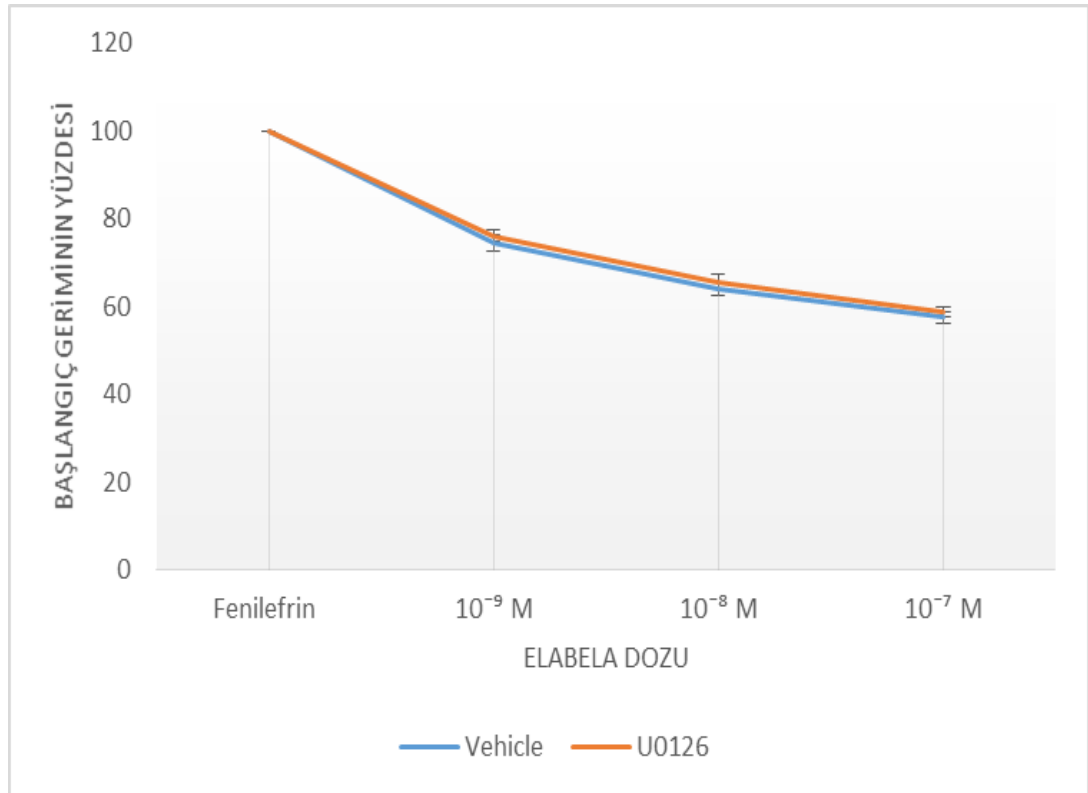
Şekil 20: Ela-32'nin vazodilatatör etkinliği üzerine eNOS inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. L-NAME uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri ile Ela-32 grubunun yüzde gerim değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Her grupta n=8.

4.11. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında MAPK Yolağının Rolü

Vehicle ve U0126 gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. U0126 grubundaki yüzde gerim değerleri ile *Vehicle* grubundaki yüzde gerim değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark belirlenmemiştir (Tablo 14). MAPK inhibisyonu sonrasında Ela-32'nin fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişiklik olmamıştır (Şekil 21).

Tablo 14: *Vehicle* ve U0126 gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	<i>Vehicle</i>	U0126	İstatistik
10^{-9} M	74,56±1,85	76,10±1,40	p>0,05
10^{-8} M	63,90±1,55	65,59±1,59	p>0,05
10^{-7} M	57,43±1,23	58,68±1,06	p>0,05



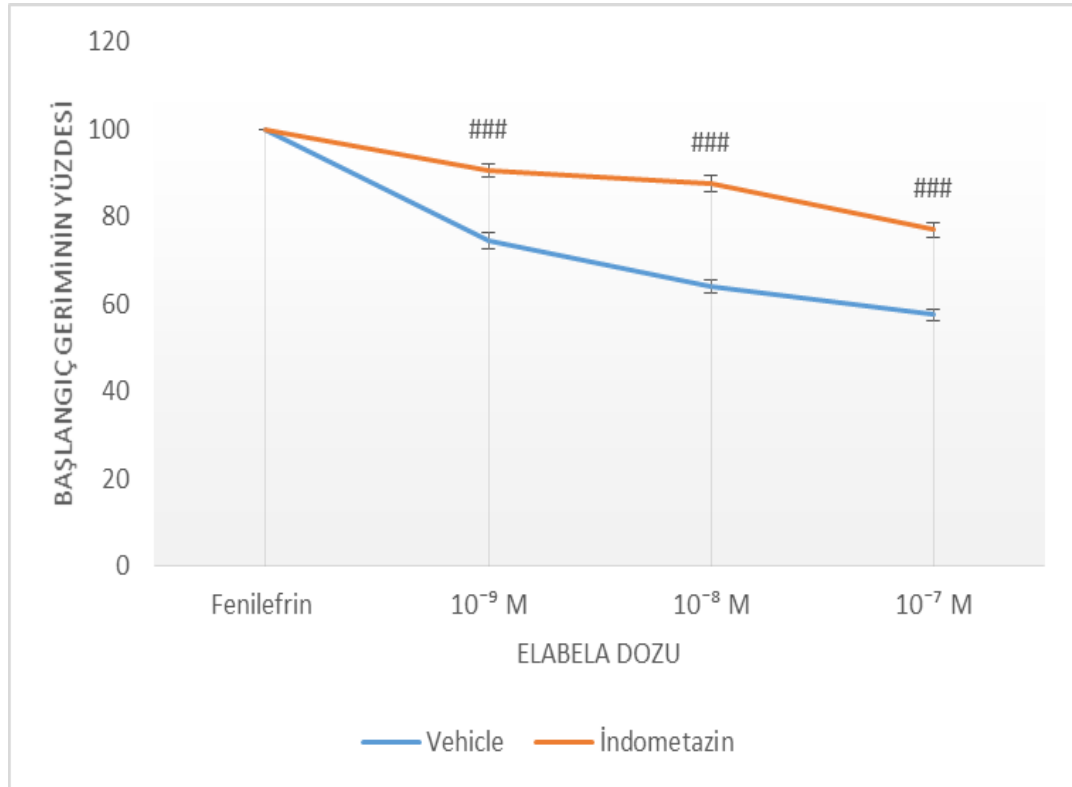
Şekil 21: Ela-32'nin vazodilatatör etkinliği üzerine MAPK inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. U0126 uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri ile *vehicle* grubunun yüzde gerim değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Her grupta n=8.

4.12. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında COX Yolağının Rolü

Vehicle ve İndometazin gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. İndometazin grubundaki yüzde gerim değerlerinin *Vehicle* grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 15). COX inhibisyonu sonrasında Ela-32'nin fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (Şekil 22).

Tablo 15: *Vehicle* ve İndometazin gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	<i>Vehicle</i>	İndometazin	İstatistik
10^{-9} M	74,56±1,85	90,64±1,43	p<0,001
10^{-8} M	63,90±1,55	87,50±1,87	p<0,001
10^{-7} M	57,43±1,23	76,92±1,55	p<0,001



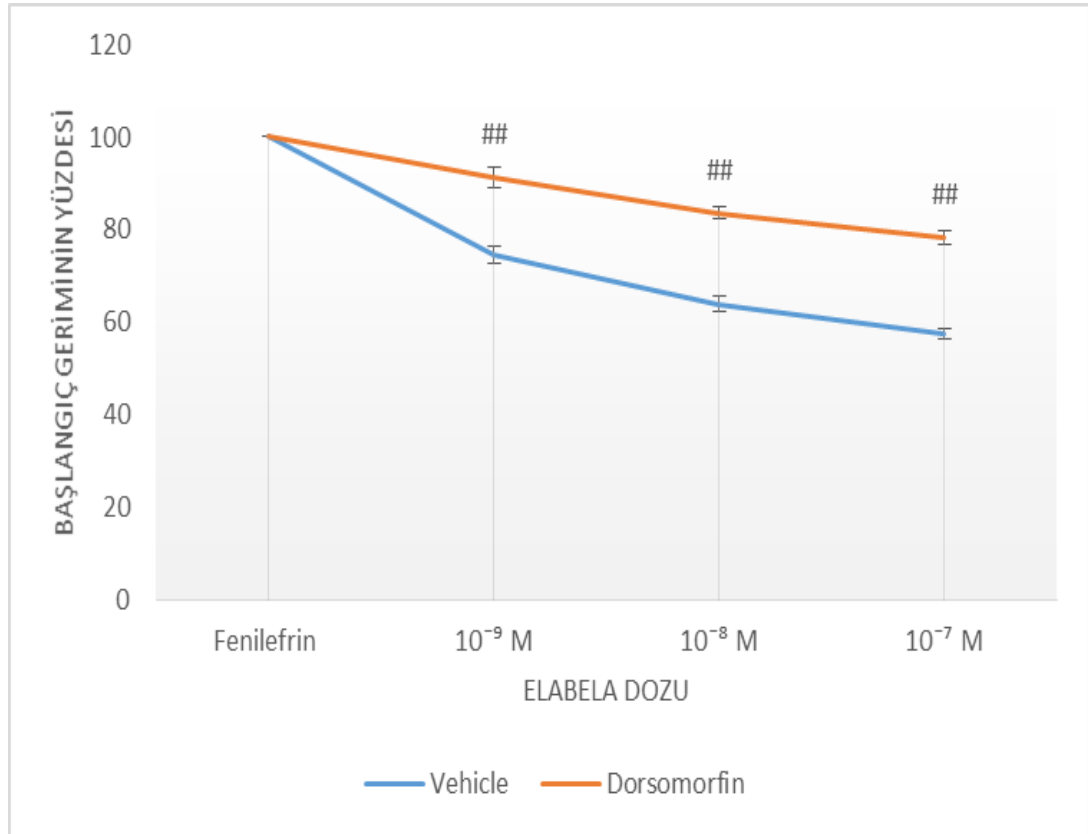
Şekil 22: Ela-32'nin vazodilatatör etkinliği üzerine COX inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. İndometazin uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri *vehicle* grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Her grupta n=8. ###: p<0,001

4.13. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında AMPK Yolağının Rolü

Vehicle ve Dorsomorfin gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. Dorsomorfin grubundaki yüzde gerim değerlerinin *Vehicle* grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 16). AMPK inhibisyonu sonrasında Ela-32'nin fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (Şekil 23).

Tablo 16: *Vehicle* ve Dorsomorfin gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	<i>Vehicle</i>	Dorsomorfin	İstatistik
10^{-9} M	74,56±1,85	91,28±2,08	p<0,001
10^{-8} M	63,90±1,55	83,65±1,29	p<0,001
10^{-7} M	57,43±1,23	78,37±1,44	p<0,001



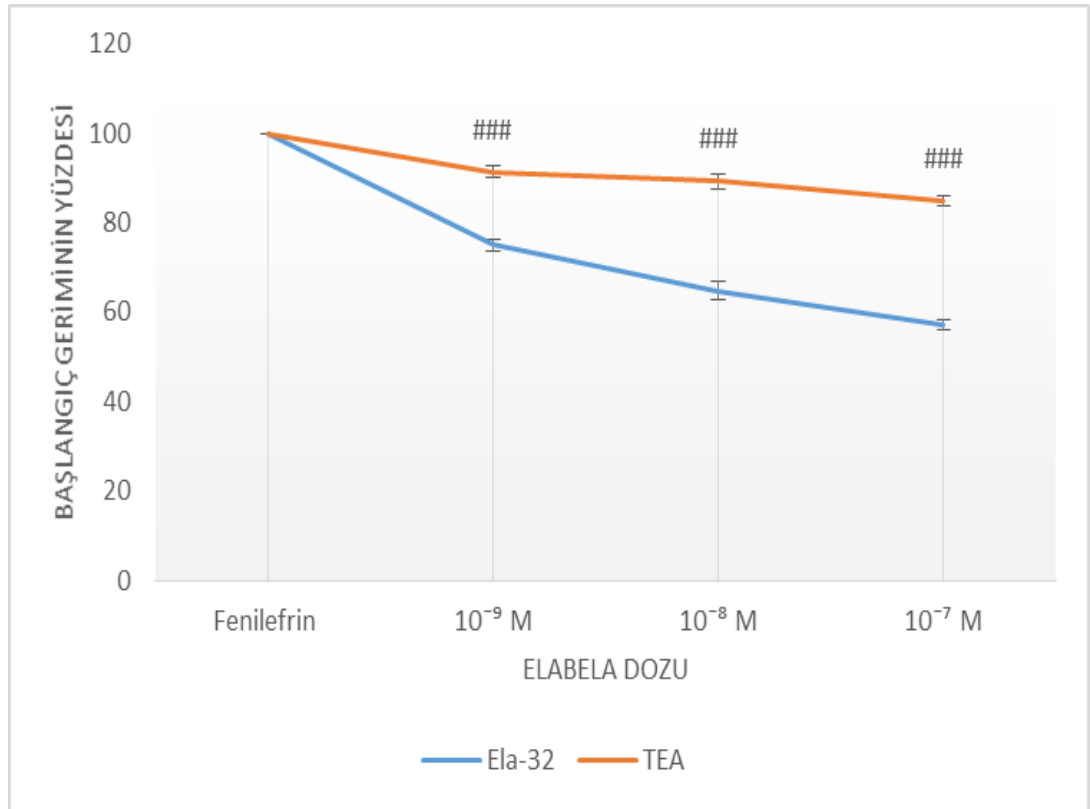
Şekil 23: Ela-32'nin vazodilatatör etkinliği üzerine AMPK inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Dorsomorfin uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri *vehicle* grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Her grupta n=8. ###: p<0,001

4.14. Elabelanın Vazodilatatör Etki Mekanizmasında Potasyum Kanallarının Rolü

Ela-32 ve TEA gruplarının yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. TEA grubundaki yüzde gerim değerlerinin Ela-32 grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 17). Potasyum kanal inhibisyonu sonrasında Ela-32'nin fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (Şekil 24).

Tablo 17: Ela-32 ve TEA gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	Ela-32	TEA	İstatistik
10^{-9} M	74,94±1,30	91,32±1,31	p<0,001
10^{-8} M	64,76±1,96	89,30±1,72	p<0,001
10^{-7} M	57,25±1,12	84,99±1,16	p<0,001



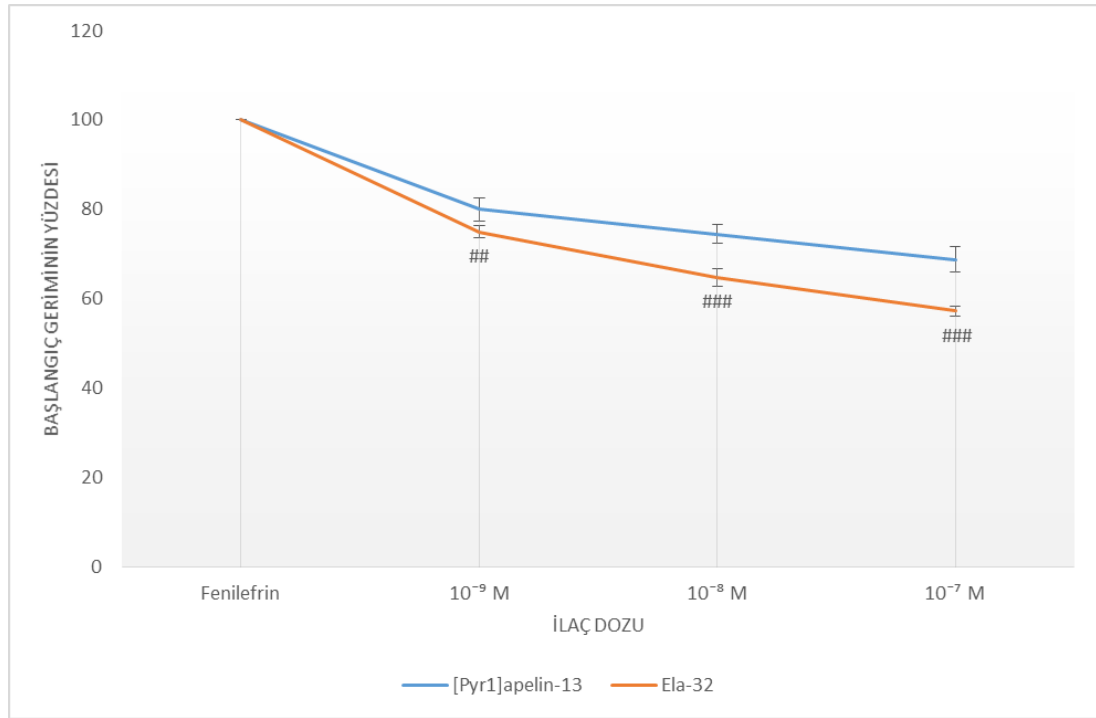
Şekil 24: Ela-32'nin vazodilatatör etkinliği üzerine potasyum kanal inhibisyonunun etkisi. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. TEA uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri Ela-32 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Her grupta n=8. ###: p<0,001

4.15. Apelin ve Elabelanın Vazodilatatör Etkinliklerinin Karşılaştırılması

Apelin ve elabelanın vazodilatatör etkinliklerini kıyaslamak amacıyla [Pyr1]apelin-13 ve Ela-32 gruplarının ortak dozlardaki (10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M) yüzde gerim değerleri karşılaştırılmıştır. Ela-32 grubundaki yüzde gerim değerleri [Pyr1]apelin-13 grubuna kıyasla tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur (Tablo 18). Ela-32, [Pyr1]apelin-13'e kıyasla fenilefrin ile ön kasılma uygulanmış sıçan torasik aortunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla vazodilatatör etki göstermiştir (Şekil 25).

Tablo 18: [Pyr1]apelin-13 ve Ela-32 gruplarının yüzde gerim değerlerinin karşılaştırılması.

Doz	[Pyr1]apelin-13	Ela-32	İstatistik
10^{-9} M	79,93±2,56	74,94±1,30	p<0,01
10^{-8} M	74,48±2,20	64,76±1,96	p<0,001
10^{-7} M	68,76±2,76	57,25±1,12	p<0,001



Şekil 25: [Pyr1]apelin-13 ve Ela-32'nin vazodilatatör etkinliklerinin karşılaştırılması. Veriler fenilefrin ile elde edilen plato geriminin yüzdesi olarak ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Ela-32 uygulanan gruptaki yüzde gerim değerleri [Pyr1]apelin-13 uygulanan gruba göre tüm ortak dozlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur. Her grupta n=8. ##: p< 0,01; ###: p<0,001

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünyada morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerinden birisidir. Bu hastalıkların toplam tedavi maliyeti her yıl oldukça büyük tutarlara ulaşmaktadır (Mozaffarian et al., 2015). Bu nedenle kardiyovasküler hastalıkların etkin tedavisini sağlayacak yeni ve alternatif ajanların geliştirilmesi oldukça önemlidir. Şimdiye kadar bulunmuş 2 endojen elemanı apelin ve elabela olan apelinergic sistem, anjiyogenik, kardiyoprotektif, pozitif inotropik ve antihipertansif özellikleri ile oldukça önemli kardiyovasküler etkilere sahiptir. Güçlü pozitif inotropik etkisi ile kalp yetmezliği tedavisinde umut vadeden apelin ve elabelanın, vazodilatatör etkileri ile de esansiyel hipertansiyon ve pulmoner hipertansiyon gibi yaygın hipertansif hastalıklarda etkin bir tedavi alternatifi sağlayabileceği düşünülmektedir (Wysocka et al., 2018; Yamaleyeva et al., 2016; Yang et al., 2015). Bu nedenle her iki ajanın vasküler kontraktile üzerindeki etkilerinin yanı sıra etki mekanizmalarının da detaylı olarak ortaya konulması kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada plazma ve kardiyovasküler dokulardaki dominant apelin izoformu olan [Pyr1]apelin-13 ve elabelanın matür izoformu olan Ela-32'nin fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aort gerimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Vazodilatatör etki gösterdiği belirlenen her iki endojen APJ ligandının bu etkisine aracılık eden olası mekanizmalar araştırılarak [Pyr1]apelin-13'ün APJ, NO, prostanoidler, AMPK ve potasyum kanalları aracılığıyla vazodilatatör etki gösterdiği; Ela-32'nin ise APJ, prostanoidler, AMPK ve potasyum kanalları aracılığıyla vazodilatatör etkiye neden olduğu sonucu elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada apelin ve elabelanın vasküler gerim üzerindeki etki düzeyleri kıyaslanarak Ela-32'nin vazodilatatör etki düzeyinin [Pyr1]apelin-13'ten daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Apelinergic sistemin vasküler kontraktile üzerindeki etkisi vazodilatasyon lehine olabildiği gibi vazokonstriksiyon lehine de olabilmektedir. Bunun nedeni hem

vasküler endotel hücrelerde hem de vasküler düz kas hücrelerinde APJ ekspres edilmesidir. Vasküler endotel hücrelerindeki APJ'ye bağlanan apelinin vazodilatasyona neden olduğu, buna karşın endotelin intakt olmadığı durumlarda doğrudan vasküler düz kas hücrelerindeki APJ'ye bağlanan apelinin vazokonstriksiyona neden olduğu ileri sürülmektedir (Read et al., 2019; Yang et al., 2015). Çalışmamızda, [Pyr1]apelin-13'ün sıçan torasik aortunda doz bağımlı olarak vazodilatör etki gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek seviyede etki 10^{-6} M dozda ve fenilefrin aracılı plato gerimi üzerinden yaklaşık % 42 düzeyinde gerçekleşmiştir. Apelinin etkisinin, endoteli intakt diğer damar yataklarında olduğu gibi ön kasılma uygulanmış sıçan torasik aortunda da vazodilatasyon lehine olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Serotonin, Ang II, U46619, NE ve ET-1 gibi çeşitli ajanlarla ön kasılma uygulanmış sıçan portal veninde, insan mezenterik ve hepatic arterlerinde, insan internal torasik arterinde, sıçan pulmoner arterinde, fare aortunda ve sıçan koroner arterinde çeşitli apelin izoformları uygulanarak vazodilatör etkinlik gösterilmiştir (Andersen et al., 2009; Gurzu et al., 2006; Huang et al., 2011; Maguire et al., 2009; Mughal et al., 2018a; Salcedo et al., 2007; Wang et al., 2015). Bizim çalışmamızda bu çalışmalardan farklı olarak sıçan torasik aortu kullanılmış ve bu damar yatağının kullanıldığı diğer çalışmalarda sıklıkla tercih edilmesi nedeni ile damar kasıcı ajan olarak fenilefrin seçilmiştir. Mughal et al., (2018a) serotonin ile ön kasılma uygulanmış sıçan koroner arterinde apelin-13'ün 3×10^{-6} M dozda % 45 düzeyinde gevşetici etki gösterdiğini bildirmiştir. Bizim çalışmamız apelin izoformu olarak [Pyr1]apelin-13, maksimum doz olarak 10^{-6} M ve damar yatağı olarak sıçan torasik aortu seçilmiş olması nedeni ile Mughal et al., (2018a)'un çalışmasından ayrılmakla birlikte yaklaşık % 42 düzeyinde saptadığımız maksimum vazodilatör etkinlik açısından iki çalışma arasında benzerlik görülmektedir. Wang et al., (2015) fare aortunda yaptıkları çalışmada apelin-13 kullanmış ve maksimum doz olan 10^{-6} M dozda % 79 oranında gevşeme meydana geldiğini belirlemiştir. Bu düzey bizim çalışmamızda görülen aynı dozdaki % 42 seviyesindeki gevşemeye göre oldukça yüksek düzeydedir. Bu farklılığın her iki çalışmadaki denek türü ve apelin izoformunun farklı olmasından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Vasküler endotelin intakt olmadığı durumlarda apelin uygulamasının vazokonstriksiyona neden olduğu ileri sürülmektedir. Katugampola et al., (2001) bizim çalışmamızda da olduğu gibi [Pyr1]apelin-13 kullandıkları çalışmada endoteli çıkarılmış insan safen veninde apelin uygulaması sonucunda KCl ile elde edilen maksimum gerimin yaklaşık % 23'ü düzeyinde kasılma oluştuğunu belirlemiştir. Benzer şekilde Maguire et al., (2009) endoteli çıkarılmış insan safen veni ve internal torasik arterinde [Pyr1]apelin-13, apelin-13 ve apelin-36 uygulaması ile vazokonstriktör etki meydana geldiğini göstermiştir. Pitkin et al., (2010) ateroskleroz hastalarından elde edilen insan koroner arterinde [Pyr1]apelin-13'ün vazokonstriktör etki gösterdiğini bildirmiştir. Wang et al., (2011) ADMA ile endotel hasarı oluşturulmuş sıçan kuyruk arterinde apelin-13'ün vazokonstriktör etkiye neden olduğunu gözlemiştir. Bizim çalışmamızda bu çalışmalardan farklı olarak vasküler endotel çıkarılmamış olup fonksiyonel bir endotelin var olduğu diğer çalışmalara benzer şekilde apelin uygulanması sonucunda vazodilatatör etkinlik görülmüştür. Bu sonuçlar endotel bütünlüğünün vasküler kontraktıl fonksiyonlar açısından oldukça önemli olduğunu ve apelinin vasküler gerim üzerindeki etkisinin niteliğini belirlediğini düşündürmektedir.

Diğer bir endojen APJ ligandı olan elabelanın vasküler kontraktilite üzerindeki etkisi çalışmamızda araştırılmıştır. APJ'nin daha yeni bulunmuş endojen ligandı olan elabelanın da apeline benzer şekilde fenilefrin ile ön kasılma uygulanmış sıçan torasik aortunda vazodilatasyona neden olduğu belirlenmiştir. Perjés et al., (2016) Ela-32'nin sıçan koroner arterinde vazodilatatör etki gösterdiğini bildirmiştir. Wang et al., (2015) fare aort halkalarında yaptıkları çalışmada U46619 ile ön kasılma uygulanmış ve Ela-32'nin doz bağımlı olarak vazodilatasyona neden olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar Ela-32 aracılı vazodilatatör etkinin çalışmada kullanılan en yüksek doz olan 10^{-6} M dozda yaklaşık % 74 düzeyinde gerçekleştiğini belirlemiştir. Bizim çalışmamızda kullanılan maksimum doz olan 10^{-7} M dozda Ela-32'nin vazodilatatör etkisinin yaklaşık % 43 düzeyinde olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu etki düzeyinin Wang et al., (2015)'un çalışmasındaki maksimum etkiden daha düşük seviyede olduğu görülmektedir. Her iki çalışmada aynı elabela izoformu uygulandığı dikkate alındığında, bu sonucun bizim çalışmamızda daha düşük doz kullanılmasından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Apelin ve elabelanın fizyolojik etkilerini G protein kenetli bir reseptör olan APJ aracılığı ile gösterdiği iyi bilinmektedir. Apelinin vasküler kontraktilite üzerindeki etkisinde de APJ reseptörünün rol oynadığı ileri sürülmektedir (Read et al., 2019; Zhang et al., 2018). Mughal et al., (2018a) APJ reseptör antagonisti F13A ile APJ inhibisyonu uygulanması sonucunda sıçan koroner arterindeki apelin-13 ile uyarılan vazodilatatör etkinin tamamen ortadan kalktığını bildirmiştir. Elabelanın vazodilatatör etkisinde APJ'nin rolünü araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda APJ inhibisyonu için Mughal et al., (2018a)'un çalışmasına benzer şekilde ve aynı dozda F13A uygulanmış olup, bu inhibisyon sonrasında [Pyr1]apelin-13'ün ve Ela-32'nin sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkilerinin tümüyle ortadan kalktığı belirlenmiştir. Bu bulgu apelin ve elabelanın sıçan torasik aort gerimine ortak reseptörleri olan APJ yoluyla etki ettiklerini göstermektedir.

Apelin ve elabela fizyolojik etkilerini ortak bir reseptör aracılığı ile gösterse de etki mekanizmaları açısından farklılık görülebilmektedir. Önceki çalışmalarda apelin aracılı vazodilatatör etkide eNOS/NO yolağının oldukça önemli bir rol oynadığı ileri sürülmektedir (Gurzu et al., 2006; Mughal et al., 2018a). Buna karşın elabelanın vazodilatatör etkisinde eNOS/NO yolağının rol oynamadığı belirtilmektedir (Wang et al., 2015). Gurzu et al., (2006) Ang II ile kasılan sıçan portal venindeki apelin-13 aracılı vazodilatatör etkide NO'nun rolü olduğunu belirlemiştir. Salcedo et al., (2007) U46619 ile kasılmış insan mezenterik arterinde apelin-13'ün NO aracılı vazodilatatör etki gösterdiğini, buna karşın insan hepatik arterinde NO'nun etkili olmadığını bildirmiştir. Mughal et al., (2018a) serotonin ile kasılmış sıçan koroner arterinde apelin-13'ün NO aracılığıyla vazodilatatör etki gösterdiğini ileri sürmüştür. Jia et al., (2007) sıçan aortunda apelin aracılı olarak eNOS/NO yolağının aktive olduğunu göstermiştir. Wang et al., (2015) ise fare aort halkalarındaki Ela-32 aracılı vazodilatasyonda eNOS/NO yolağının rol oynamadığını belirlemiştir. Ancak şu ana kadar sıçan torasik aortundaki apelin veya elabela aracılı vazodilatatör etkide eNOS/NO yolağının rolünü araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda apelinin vazodilatatör etki mekanizmasını araştırmak amacı ile eNOS inhibitörü L-NAME uygulanmış ve sıçan torasik aortundaki [Pyr1]apelin-13 aracılı vazodilatatör etkinin çok büyük oranda ortadan kalktığı görülmüştür. Bu durum apelinin vazodilatatör etki mekanizmasında eNOS/NO

yolağının oldukça önemli bir rolü olduğunu ve sıçan torasik aortunda da etkin olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu bulgunun daha önceki çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir (Gurzu et al., 2006; Mughal et al., 2018a). Buna karşın çalışmamızda L-NAME uygulaması sonucunda sıçan torasik aortundaki Ela-32 aracılı vazodilatatör etkide istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişiklik meydana gelmediği belirlenmiştir. Bu sonuç elabela aracılı vazodilatatör etkide apelinin aksine eNOS/NO yolağının rolü olmadığını göstermekte ve başka mekanizmaların bu etkiye aracılık ettiğini düşündürmektedir. Elde ettiğimiz bu sonucun Wang et al., (2015)'un çalışmasıyla aynı doğrultuda olduğu görülmektedir. Bu bulgu, apelin ve elabelanın reseptörlerinin ortak olmasına rağmen reseptör sonrasında farklı mekanizmalarla aynı fizyolojik etkiye neden olabildiklerini göstermektedir.

Birçok hücre sel süreçte rol aldığı belirtilen MAPK yolağının kardiyovasküler kontraktilite ile de ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (Perjés et al., 2016; Roberts, 2004). Yaban gelinciği aortu ve domuz palmar lateral veninde yapılan çalışmalarda MAPK yolağındaki MEK/ERK aktivitesinin vasküler kontraktilite fonksiyonlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Dessy et al., 1998; Roberts, 2001; Roberts, 2004). Bununla birlikte, MAPK yolağı apelinin sistemle de ilişkilendirilmiştir. Elabela aracılı pozitif inotropik etkide MAPK yolağındaki ERK 1-2 aktivasyonunun rolü olduğu belirtilmektedir. Perjés et al., (2016) elabelanın kardiyak ve vasküler kontraktilite üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada Ela-32'nin izole sıçan kalbinde doz bağımlı olarak pozitif inotropik ve koroner vazodilatatör etki gösterdiğini bildirmiştir. Ela-32 uygulamasına bağlı olarak kardiyak kontraktilitede maksimum % 46 oranında artış görülen bu çalışmada MAPK yolağında aktifleştikleri bilinen MEK 1-2/ERK 1-2 inhibisyonuna bağlı olarak Ela-32'nin pozitif inotropik etkisinde yaklaşık % 50 oranında azalma meydana geldiği belirtilmiştir. Bununla birlikte MEK 1-2 inhibitörü U0126 uygulamasına bağlı olarak Ela-32'nin koroner vazodilatatör etkisinin de azalma eğilimi gösterdiği ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı ileri sürülmüştür. Bu veriler apelinin sistemin vazodilatatör etkisinde MAPK yolağının rolü olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle çalışmamızda hem [Pyr1]apelin-13 hem de Ela-32'nin sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkilerine MAPK yolağının katkısı olup olmadığı

sorgulanmıştır. MAPK yolağındaki MEK 1-2'nin inhibisyonu amacıyla U0126 uygulanması sonrasında ne [Pyr1]apelin-13 ne de Ela-32'nin vazodilatatör etkinliklerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişiklik görülmemiş olup bu sonuç apelin ve elabelanın vazodilatatör etkisinde MAPK yolağının rol almadığını göstermektedir.

Siklooksijenaz yolağında üretilen PGI₂, PGD₂ ve PGE₂ gibi bazı prostanooidlerin vazodilatatör etkiye aracılık edebildiği ileri sürülmektedir (Félétou et al., 2011). Serebryakov, Zakharenko, Snetkov, & Takeda, (1994) sıçan torasik aortunda PGE₁ ve PGE₂ uygulamasının vazodilatatör etkiye neden olduğunu bildirmiştir. Ozen et al., (2017) insan internal torasik arter ve safen ven örneklerindeki NE ile uyarılan vasküler tonusun mPGES-1 inhibisyonu sonrasında PGI₂'deki artış aracılığı ile azaldığını göstermiştir. Özellikle, indometazin uygulamasıyla sentezi büyük ölçüde azalan PGI₂'nin güçlü bir vazodilatatör olduğu bilinmekte olup apelin aracılı vazodilatasyonda rolü olabileceği belirtilmektedir (Read et al., 2019; Rikitake, 2020). Apelin aracılı vazodilatatör etkide prostanooidlerin rolünü araştıran önceki çalışmalarda tutarsız veriler elde edilmiştir (Japp et al., 2008; Maguire et al., 2009; Mughal et al., 2018a). Japp et al., (2008) insanlarda yaptıkları ve [Pyr1]apelin-13 veya apelin-36 infüzyonunun ön kol direnç arterlerinde vazodilatasyona neden olduğunu, buna karşın venöz tonusu değiştirmediklerini belirledikleri *in vivo* bir çalışmada [Pyr1]apelin-13 ile uyarılan vazodilatatör etkide NO'nun rolü olduğunu ancak prostanooidlerin rolü olmadığını bildirmiştir. Benzer şekilde Mughal et al., (2018a) sıçan koroner arterindeki apelin-13 aracılı vazodilatatör etkinin NO aracılı olarak gerçekleştiğini fakat prostanooidlerin bu etkiye katkıda bulunmadığını ileri sürmüştür. Buna karşın, Maguire et al., (2009)'un yaptığı çalışmada koroner arter hastalarından elde edilen insan internal torasik arterlerinde [Pyr1]apelin-13'ün meydana getirdiği vazodilatasyona NO yolağının katılmadığı ancak prostanooidlerin katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalarda elde edilen farklı sonuçlar, kullanılan denek türlerinin farklı olmasından ya da koroner arter hastalarındaki diğer damar yataklarının da endotel yapısındaki bozulmadan kaynaklanmış olabilir. Prostanooidlerin elabela aracılı vazodilatatör etkideki rolünün araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda sıçan torasik aortundaki [Pyr1]apelin-13 ve Ela-32 aracılı vazodilatatör etkilerde

prostanoidlerin rolü olup olmadığı araştırılmıştır. Selektif olmayan COX inhibitörü indometazin uygulaması sonrasında fenilefrin ile ön kasılma uygulanan sıçan torasik aortundaki [Pyr1]apelin-13 aracılı vazodilatatör etkinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığını belirlediğimiz çalışmamızda aynı şekilde Ela-32 aracılı vazodilatatör etkinin de COX inhibisyonu sonucunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmamızda COX inhibisyonu sonrasında Ela-32'nin vazodilatatör etkinliğinin [Pyr1]apelin-13'e kıyasla daha büyük oranda azaldığı saptanmış olup bu bulgumuz sağlıklı sıçan torasik aortunda hem apelin hem de elabelanın vazodilatatör etkisinde prostanoidlerin rol oynamasına karşın prostanoid aracılı vazodilatatör etkinliğinin elabelanın vazodilatatör etkisinde daha önemli olduğunu düşündürmektedir. Prostanoid aracılı vazodilatatör etkinin özellikle eNOS/NO yolağı gibi diğer vazodilatatör yollarının baskılandığı veya damar yatağının sağlıklı olmadığı durumlarda ön plana çıktığı ileri sürülmesine rağmen, elde ettiğimiz bu bulgu fizyolojik koşullarda sağlıklı bir damar yatağında da prostanoidlerin vazodilatatör etkide önemli bir aracı olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte çalışmamızda kullandığımız indometazinin seçici olmayan bir COX inhibitörü olmasından dolayı çalışmamız hangi prostanoid alt tipinin apelin ve elabelanın vazodilatatör etkisine aracılık ettiği konusunda fikir vermemektedir. Bu nedenle selektif prostaglandin sentaz inhibitörleri kullanılarak apelin ve elabelanın vazodilatatör etkiye aracılık eden prostanoid alt tipi ya da tiplerinin belirlenebileceğini ve öncelikle güçlü vazodilatatör etkisi nedeniyle PGI₂'nin olası rolünün araştırılabileceğini düşünmekteyiz.

Hücrelerde enerji sensörü olarak görev yapan ve birçok metabolik sürecin düzenlenmesinde rol alan AMPK yolağının vasküler kontraktıl fonksiyonla yakından ilişkili olduğu ve antikontraktıl etkiye aracılık ettiği belirtilmektedir. AMPK yolağının metformin, resveratrol ve *curcumin* gibi sık kullanılan ilaçların veya etkileri güncel birer araştırma konusu olan çeşitli maddelerin vazodilatatör etkinliğinde önemli bir rol oynadığı ileri sürülmektedir. AMPK'nın vasküler endotel hücrelerinde eNOS aktivitesini artırıp NO aracılı olarak vazodilatasyona neden olduğu bildirilmiştir (Salt, & Hardie, 2017). Ford et al., (2012) spontan hipertansif sıçanlarda AMPK aktivasyonu sonrasında NO aracılı olarak vazodilatasyon meydana geldiğini ileri sürmüştür. Goirand et al., (2007) AMPK'nın fare aortundaki endotel

bağımsız gevşemede rol aldığını bildirmiştir. AMPK aktivatörleri olan AICAR veya A769662 kullanılan çeşitli çalışmalarda vazodilatatör ve hipotansif etki gözlenmiştir (Buhl et al., 2002; Ford et al., 2012; Schneider et al., 2015). Apelinergic sistemin vasküler kontraktile üzerindeki etkisi ile AMPK yolağını ilişkilendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda antikontraktil fonksiyondaki çok önemli rolü nedeni ile [Pyr1]apelin-13 ve Ela-32'nin sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkinliğinde AMPK yolağının olası rolü araştırılmıştır. AMPK inhibisyonu için sıklıkla kullanılan dorsomorfin uygulaması sonrasında fenilefrin ile ön kasılma uygulanmış sıçan torasik aortundaki [Pyr1]apelin-13 aracılı vazodilatatör etkinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı gözlenmiştir. Bununla birlikte çalışmamızda dorsomorfin uygulaması sonucunda sıçan torasik aortundaki Ela-32 aracılı vazodilatatör etkinin de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar AMPK aktivasyonunun apelin ve elabela aracılı vazodilatatör etkide önemli bir rolünün olduğunu göstermektedir. Hem bizim çalışmamızda hem de daha önceki çalışmalarda apelinin vazodilatatör etkisinde NO'nun oldukça önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (Gurzu et al., 2006; Mughal et al., 2018a). Daha önceki çalışmalarda NO üretiminde PI3K/Akt/eNOS yolağının etkili olduğu ileri sürülmektedir (Kuba et al., 2019; Zhang et al., 2018). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz AMPK aktivasyonunun apelin aracılı vazodilatatör etkide rol aldığına ilişkin bulgumuz apelin aracılı NO üretimine AMPK yolağının da katkıda bulunuyor olabileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan Wang et al., (2015)'un çalışmasında ve bizim çalışmamızda elabelanın vazodilatatör etkisinde eNOS/NO yolağının rolü olmadığı gözleendiğinden elabela aracılı vazodilatatör etkide AMPK sonrasında eNOS/NO yolağı dışında başka mekanizmalar rol oynuyor olabilir.

Potasyum kanalları membran potansiyelinin, voltaj kapılı kalsiyum kanallarının açılıp kapanmasının, hücre içi kaynaklardan kalsiyum salımının ve kalsiyum duyarlılığının düzenlenmesi yoluyla vasküler tonusun belirlenmesinde anahtar bir rol oynamaktadır. Potasyum kanallarının önemli bir alt tipi çoğu hücrede bulunan BK_{Ca} kanalları olup nispeten düşük dozlarda TEA uygulaması ile büyük oranda bu kanallar inhibe olmaktadır. Buna karşın daha yüksek dozlarda kullanıldığında TEA'nın spesifikliğinin azalabildiği ve K_v kanallarını da inhibe

edebildiği ileri sürülmektedir (Tykocki et al., 2017). Spesifik olarak BK_{Ca} kanal inhibisyonu için ise *iberiotoxin* gibi ajanlar kullanılmaktadır. Daha önceki çalışmalarda potasyum kanalları, özellikle BK_{Ca} kanalları, apelin aracılı vasküler kontraktıl etkilerle ilişkilendirilmiştir (Modgil et al., 2013; Mughal et al., 2018a; Mughal et al., 2018b). Modgil et al., (2013) sıçan serebral arter düz kas hücrelerinde apelin-13'ün BK_{Ca} kanallarını PI3K bağımlı bir mekanizma ile inhibe ettiğini göstermiştir. Mughal et al., (2018a) sıçan koroner arteri kullandıkları çalışmada *iberiotoxin* ile BK_{Ca} kanal inhibisyonuna bağılı olarak apelin-13 aracılı vazodilatatör etkide istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma meydana geldiğini belirlemiştir. Başka bir çalışmada Mughal et al., (2018b) apelin-13'ün sıçan serebral arterinde NO aracılı BK_{Ca} kanal aktivasyonunu engelleyerek bradikinin aracılı gevşemeyi inhibe ettiğini bildirmiştir. Bu çalışmalar apelinin BK_{Ca} kanallarını damar yatağının türüne bağılı olarak hem aktive hem de inhibe edebildiğini göstermektedir. Öte yandan elabelanın vazodilatatör etkisinde potasyum kanallarının rolünü araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda potasyum kanal inhibitörü TEA uygulanarak sıçan torasik aortundaki [Pyr1]apelin-13 ve Ela-32 aracılı vazodilatatör etkide potasyum kanallarının rolü olup olmadığı araştırılarak, TEA uygulamasının hem [Pyr1]apelin-13 hem de Ela-32 aracılı vazodilatatör etkiyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı gösterilmiştir. Elde ettiğimiz bu bulgu potasyum kanal aktivasyonunun apelinin sistem aracılı vazodilatatör etkide önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Mughal et al., (2018a; 2018b)'un çalışmaları da dikkate alındığında apelin ve elabelanın vazodilatatör etkisinde rolü olan potasyum kanalı alt tipinin BK_{Ca} kanalı olabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte TEA'nın yüksek dozlarda K_V kanallarını da inhibe edebildiği ileri sürüldüğünden selektif inhibitörler kullanılarak hangi potasyum kanal alt tip(ler)inin apelin ve elabela aracılı vazodilatatör etkide rol oynadığının belirlenmesi gerekmektedir. Ayrıca vasküler tonusun düzenlenmesinde rolü olabilecek K_{ATP} kanalları, K_V kanalları, K_{2P} kanalları ve K_{IR} kanalları gibi diğer potasyum kanal alt tiplerinin apelinin sistem aracılı vazodilatatör etkideki rolünü araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu konunun daha ileri düzeyde araştırılması gerektiğini düşünmekte ve yeni bir çalışma planlamaktayız. Çeşitli çalışmalarda prostanoidlerin BK_{Ca} kanallarının da dahil olduğu bazı potasyum kanallarını aktive ettiği belirlenmiştir (Moreau, Hurst,

Lapointe, & Lajeunesse, 1996; Ruiz-Velasco, & Ikeda, 1998). Köpek karotis arterinde PGI₂'nin potasyum kanallarını aktive ederek vazodilatasyona neden olduğu bildirilmiştir (Siegel, Carl, Adler, & Stock, 1989). Diğer taraftan, Schneider et al., (2015) AMPK'nın farelerden izole edilen direnç arterlerinde BK_{Ca} kanallarını aktive ederek vazodilatasyona neden olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar AMPK'nın, prostanooidlerin ve potasyum kanallarının apelin ve elabelanın vazodilatatör etkisinde rol oynadığını göstermekte olup bu sonuçlar bize sıçan torasik aortundaki apelinerjik sistem aracılı potasyum kanal aktivasyonunda prostanooidlerin ve AMPK'nın rolü olabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, NO/cGMP aracılı olarak BK_{Ca} kanallarının aktive olabildiği ileri sürülmektedir (Joshi, Nelson, & Werner, 2012). eNOS/NO yolağının ve potasyum kanallarının apelin aracılı vazodilatasyonda oldukça önemli bir rol oynadığı hem önceki çalışmalarda hem de bizim çalışmamızda gösterildiğinden sıçan torasik aortundaki apelin kaynaklı vazodilatasyonda NO yoluyla meydana gelen bir potasyum kanal aktivasyonunun da katkısı olabileceğini düşünmekteyiz.

Son olarak, çalışmamızda apelin ve elabelanın vazodilatatör etki düzeyleri karşılaştırılmıştır. Wang et al., (2015)'un çalışmasında apelin-13'ün vazodilatatör etkisinin Ela-32'den daha fazla olduğu ileri sürülmüştür. Araştırmacılar bu çalışmada fare aortunda apelin-13'ün maksimum % 79 oranında, Ela-32'nin ise yaklaşık % 74 oranında gevşeme sağladığını belirlemiştir. Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak sıçan torasik aortu ve [Pyr1]apelin-13 kullanılmıştır. Ela-32'nin tüm ortak dozlarda [Pyr1]apelin-13'ten istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla vazodilatatör etki gösterdiği sonucuna ulaşılan çalışmamızda her iki ajan için en yüksek ortak doz olan 10⁻⁷ M dozda [Pyr1]apelin-13'ün yaklaşık % 31, Ela-32'nin ise yaklaşık % 43 oranında gevşetici etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgumuz, Wang et al., (2015)'un çalışmasından farklı olarak, elabelanın apelininden daha fazla vazodilatatör etkiye neden olduğunu göstermektedir. Apelin izoformlarının etki gücü bakımından farklılık gösterebildiği bilinmektedir (Shin et al., 2017). Bu nedenle bizim çalışmamız ve Wang et al., (2015)'un çalışması arasındaki bu farklılığın her iki çalışmada kullanılan denek türlerinin yanı sıra özellikle apelin izoformlarının farklı olmasından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Yang et al., (2017) Ela-32 ve [Pyr1]apelin-13'ün sıçanlarda sistemik vazodilatasyona neden olduğunu

gösterdikleri çalışmada daha düşük dozlardaki Ela-32'nin [Pyr1]apelin-13 ile benzer ya da daha yüksek seviyede etki oluşturduğunu ve bu durumun aynı çalışmada elde ettikleri insan kalbinde Ela-32'nin [Pyr1]apelin-13'ten yaklaşık 5 kat fazla reseptör afinitesi gösterdiği bulgusu ile uyumlu olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmadaki veriyle bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonucun benzer olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, sunmuş olduğumuz çalışmamızda, endojen APJ ligandları olan apelin ve elabelanın her ikisinin de fenilefrin ile kasılmış sıçan torasik aortunda vazodilatatör etki gösterdiği belirlenmiştir. Apelinin vazodilatatör etki mekanizmasında APJ'nin yanı sıra eNOS/NO yolağı, AMPK yolağı, prostanoidler ve potasyum kanallarının rolü olduğu ancak MAPK yolağının rolü olmadığı gösterilmiştir. Elabelanın vazodilatatör etki mekanizmasında ise APJ'nin yanı sıra AMPK yolağı, potasyum kanalları ve prostanoidlerin rol oynadığı ancak eNOS/NO ve MAPK yolaklarının rol oynamadığı saptanmıştır. MAPK yolağının ne apelinin ne de elabelanın vazodilatatör etkisinde rol oynamadığı belirlenen çalışmamızda, eNOS/NO yolağının ise sadece apelinin vazodilatatör etkisinde rol aldığı gözlenmiştir. Çalışmamızda AMPK yolağı, COX yolağı ve potasyum kanallarının her iki etken maddenin vazodilatatör etkisinde de ortak olarak rol aldığı gösterilmiştir. Bunlara ek olarak Ela-32'nin sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etki düzeyinin [Pyr1]apelin-13'e kıyasla daha yüksek olduğu da çalışmamızda ortaya konulmuştur. Apelin ve elabelanın belirgin vazodilatatör etkinlikleri nedeniyle birçok kardiyovasküler hastalıkta, özellikle esansiyel hipertansiyon ve pulmoner arteriyel hipertansiyon gibi hipertansif hastalıklarda alternatif tedavi ajanlarının geliştirilmesi açısından umut vadettiğini düşünmekteyiz. Bu nedenle apelin ve elabelanın vazodilatatör etki mekanizmalarının aydınlatılması kritik öneme sahip olup çalışmamızda elde edilen veriler literatüre önemli bir katkı sağlayabilecektir.

6. KAYNAKLAR

- Almabrouk, T. A., Ugusman, A. B., Katwan, O. J., Salt, I. P., & Kennedy, S. (2017). Deletion of AMPK α 1 attenuates the anticontractile effect of perivascular adipose tissue (PVAT) and reduces adiponectin release. *British Journal of Pharmacology*, 174(20), 3398-3410. DOI: 10.1111/bph.13633
- Andersen, C. U., Hilberg, O., Mellekjær, S., Nielsen-Kudsk, J. E., & Simonsen, U. (2011). Apelin and pulmonary hypertension. *Pulmonary Circulation*, 1(3), 334-346. DOI: 10.4103/2045-8932.87299
- Andersen, C. U., Markvardsen, L. H., Hilberg, O., & Simonsen, U. (2009). Pulmonary apelin levels and effects in rats with hypoxic pulmonary hypertension. *Respiratory Medicine*, 103, 1663–1671. DOI: 10.1016/j.rmed.2009.05.011
- Banes, A., Florian, J. A., & Watts, S. W. (1999). Mechanisms of 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor activation of the mitogen-activated protein kinase pathway in vascular smooth muscle. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291(3), 1179–1187.
- Boo, Y. C., Hwang, J., Sykes, M., Michell, B. J., Kemp, B. E., Lum, H., & Jo, H. (2002a). Shear stress stimulates phosphorylation of eNOS at Ser635 by a protein kinase A dependent mechanism. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 283, H1819-H1828. DOI: 10.1152/ajpheart.00214.2002
- Boo, Y. C., Sorescu, G., Boyd, N., Shiojima, I., Walsh, K., Du, J., & Jo, H. (2002b). Shear stress stimulates phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase at Ser1179 by Akt-independent mechanisms role of protein kinase A. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 3388-3396. DOI: 10.1074/jbc.M108789200
- Brame, A. L., Maguire, J. J., Yang, P., Dyson, A., Torella, R., Cheriyan, J. ... Davenport, A. P. (2015). Design, characterization, and first-in human study of the vascular actions of a novel biased apelin receptor agonist. *Hypertension*, 65, 834–840. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.05099.
- Brayden, J. E., & Nelson, M. T. (1992). Regulation of arterial tone by activation of calcium-dependent potassium channels. *Science*, 256, 532–535. DOI: 10.1126/science.1373909
- Buhl, E. S., Jessen, N., Pold, R., Ledet, T., Flyvbjerg, A., Pedersen, S. B., ... Lund, S. (2002). Long-term AICAR administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in rats displaying features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes*, 51, 2199–2206. DOI: 10.2337/diabetes.51.7.2199
- Campbell, W. B., Gebremedhin, D., Pratt, P. F., & Harder, D. R. (1996). Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circulation Research*, 78, 415–423. DOI: 10.1161/01.res.78.3.415

- Cargnello, M., & Roux, P. P. (2011). Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75, 50–83. DOI: 10.1128/MMBR.00031-10
- Carl, A., Lee, H. K., & Sanders, K. M. (1996). Regulation of ion channels in smooth muscles by calcium. *American Journal of Physiology*, 271, C9–C34. DOI: 10.1152/ajpcell.1996.271.1.C9
- Carvajal J. A., Germain, A. M., Huidobro-Toro, J. P., & Weiner, C. P. (2000). Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. *Journal of Cellular Physiology*, 184(3), 409-420. DOI: 10.1002/1097-4652(200009)184:3<409::AID-JCP16>3.0.CO;2-K
- Caulin-Glaser, T., Garcia-Cardena, G., Sarrel, P., Sessa, W. C., & Bender, J. R. (1997). 17 beta-estradiol regulation of human endothelial cell basal nitric oxide release, independent of cytosolic Ca²⁺ mobilization. *Circulation research*, 81, 885-892.
- Charles, C. J., Rademaker, M. T., & Richards, A. M. (2006). Apelin-13 induces a biphasic haemodynamic response and hormonal activation in normal conscious sheep. *Journal of Endocrinology*, 189, 701–710. DOI: 10.1677/joe.1.06804
- Chen, J., Yang, R., Buzanowski, M., & Cichanowicz, J. (1990). Cold selective catalytic reduction of nitric oxide for flue gas applications. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 29, 1431-1435. DOI.org/10.1021/ie00103a049
- Chen, Z., Peng, I.C., Sun, W., Su, M. I., Hsu, P. H., Fu, Y., ... Shyy, J. Y. (2009). AMP-activated protein kinase functionally phosphorylates endothelial nitric oxide synthase Ser633. *Circulation Research*, 104, 496–505. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.108.187567
- Chen, Z. P., Mitchelhill, K. I., Michell, B. J., Stapleton, D., Rodriguez-Crespo, I., Witters, L. A., ... Kemp, B. E. (1999). AMPactivated protein kinase phosphorylation of endothelial NO synthase. *FEBS Letters*, 443, 285–289. DOI: 10.1016/S0014-5793(98)01705-0
- Cheng, X., Cheng, X. S., & Pang, C. C. (2003). Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats. *European Journal of Pharmacology*, 470(3), 171–175. DOI: 10.1016/s0014-2999(03)01821-1
- Chng, S. C., Ho, L., Tian, J., & Reversade, B. (2013). ELABELA: A hormone essential for heart development signals via the apelin receptor. *Developmental Cell*, 27(6), 672–680. DOI: 10.1016/j.devcel.2013.11.002
- Chun, H. J., Ali, Z. A., Kojima, Y., Kundu, R. K., Sheikh, A. Y., Agrawal, R., ... Quertermous, T. (2008). Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *Journal of Clinical Investigation*, 118(10), 3343-3354. DOI: 10.1172/JCI34871

- Cobb, M. H. (1999). MAP kinase pathways. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 71(3–4), 479–500. DOI: 10.1016/s0079-6107(98)00056-x
- Corriu, C., Félétou, M., Canet, E., & Vanhoutte, P. M. (1996). Endothelium-derived factors and hyperpolarisations of the isolated carotid artery of the guinea-pig. *British Journal of Pharmacology*, 119, 959–964. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1996.tb15765.x
- Corriu, C., Félétou, M., Edwards, G., Weston, A. H., & Vanhoutte, P. M. (2001). Differential effects of Prostacyclin and Iloprost in the isolated carotid artery of the guinea-pig. *European Journal of Pharmacology*, 426, 89–94. DOI: 10.1016/s0014-2999(01)01203-1
- Dai, T., Ramirez-Correa, G., & Gao, W. D. (2006). Apelin increases contractility in failing cardiac muscle. *European Journal of Pharmacology*, 553(1–3), 222–228. DOI: 10.1016/j.ejphar.2006.09.034
- Dessy, C., Kim, I., Sougnez, C. L., Laporte, R., & Morgan, K. G. (1998). A role for MAP kinase in differentiated smooth muscle contraction evoked by α -adrenoceptor stimulation. *American Journal of Physiology*, 275(4 Pt 1), C1081–C1086. DOI.org/10.1152/ajpcell.1998.275.4.C1081
- Dimmeler, S., Fleming, I., Fisslthaler, B., Hermann, C., Busse, R., & Zeiher, A. M. (1999). Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature*, 399, 601–605. DOI: 10.1038/21224
- Duffy, S. J., Tran, B. T., New, G., Tudball, R. N., Esler, M. D., Harper, R. W., & Meredith, I. T. (1998). Continuous release of vasodilator prostanoids contributes to regulation of resting forearm blood flow in humans. *American Journal of Physiology*, 274, H1174–H1183. DOI: 10.1152/ajpheart.1998.274.4.H1174
- Enkhjargal, B., Godo, S., Sawada, A., Suvd, N., Saito, H., Noda, K., ... Shimokawa H. (2014). Endothelial AMP-activated protein kinase regulates blood pressure and coronary flow responses through hyperpolarization mechanism in mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 34, 1505–1513. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303735
- Ewart, M. A., & Kennedy, S. (2011). AMPK and vasculoprotection. *Pharmacology & Therapeutics*, 131, 242–253. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2010.11.002
- Félétou, M., Huang, Y., & Vanhoutte, P. M. (2011). Endothelium-mediated control of vascular tone: COX-1 and COX-2 products. *British Journal of Pharmacology*, 164(3), 894–912. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01276.x
- Félétou, M., & Vanhoutte, P. M. (2007). Endothelium-dependent hyperpolarizations: past beliefs and present facts. *Annals of Medicine*, 39, 495–516. DOI: 10.1080/07853890701491000

- Folino, A., Montarolo, P. G., Samaja, M., & Rastaldo, R. (2015). Effects of apelin on the cardiovascular system. *Heart Failure Reviews*, 20(4), 505-518. DOI: 10.1007/s10741-015-9475-x
- Ford, R. J., Teschke, S. R., Reid, E. B., Durham, K. K., Kroetsch, J. T., & Rush, J. W. (2012). AMP-activated protein kinase activator AICAR acutely lowers blood pressure and relaxes isolated resistance arteries of hypertensive rats. *Journal of Hypertension*, 30, 725-733. DOI: 10.1097/HJH.0b013e32835050ca
- Forsterman, U., & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, 33, 829-837. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr304
- Furchgott, R. F. (1988). Studies on Relaxation of Rabbit Aorta by Sodium Nitrite: The Basis for the Proposal that Acid-activable Inhibitory Factor from Bovine Retractor Penis Is Inorganic Nitrite and the Endothelium-derived Relaxing Factor Is Nitric Oxide. *Vasodilatation: Vascular Smooth Muscle Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium*. In: Vanhoutte PM, editor (p.401-414). New York: Raven Press.
- Ganitkevich, V. Y., & Isenberg, G. (1993). Membrane potential modulates inositol 1,4,5-trisphosphate-mediated Ca^{2+} transients in guinea-pig coronary myocytes. *The Journal of Physiology*, 470, 35-44. DOI: 10.1113/jphysiol.1993.sp019845
- Gerbier, R., Alvear-Perez, R., Margathe, J. F., Flahault, A., Couvineau, P., Gao, J., ... Llorens-Cortes, C. (2017). Development of original metabolically stable apelin-17 analogs with diuretic and cardiovascular effects. *FASEB Journal*, 31, 687-700. DOI: 10.1096/fj.201600784R
- Goirand, F., Solar, M., Athea, Y., Viollet, B., Mateo, P., Fortin, D., ... Garnier, A. (2007). Activation of AMP kinase alpha1 subunit induces aortic vasorelaxation in mice. *The Journal of Physiology*, 581, 1163-1171. DOI: 10.1113/jphysiol.2007.132589
- Goldenbaum, G., & Dickerson, R. (1993). Nitric oxide production by lightning discharges. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 98, 18333-18338. DOI.org/10.1029/93JD01018
- Gurzu, B., Petrescu, B. C., Costuleanu, M., & Petrescu, G. (2006). Interactions between apelin and angiotensin II on rat portal vein. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 7(4), 212-216. DOI: 10.3317/jraas.2006.040
- Gutterman, D. D., Chabowski, D. S., Kadlec, A. O., Durand, M. J., Freed, J. K., Ait-Aissa, K., & Beyer, A. M. (2016). The human microcirculation: regulation of flow and beyond. *Circulation Research*, 118, 157-172. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.305364
- Gwóźdz, P., Drelicharz, L., Kozlovski, V.I., & Chlopicki, S. (2007). Prostacyclin, but not nitric oxide, is the major mediator of acetylcholine-induced vasodilatation in the isolated mouse heart. *Pharmacological Reports*, 59, 545-552.

- Hall, J. M. (1997). Bradykinin receptors. *General Pharmacology: The Vascular System*, 28, 1-6. DOI: 10.1016/s0306-3623(96)00174-7
- Han, X., Zhang, D. L., Yin, D. X., Zhang, Q. D., & Liu, W. H. (2013) Apelin-13 deteriorates hypertension in rats after damage of the vascular endothelium by ADMA. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 91(9), 708–714. DOI: 10.1139/cjpp-2013-0046
- Harris, M. B., Ju, H., Venema, V. J., Liang, H., Zou, R., Michell, B. J., Venema, R. C. (2001). Reciprocal phosphorylation and regulation of endothelial nitric-oxide synthase in response to bradykinin stimulation. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 16587-16591. DOI: 10.1074/jbc.M100229200
- Hashimoto, T., Kihara, M., Ishida, J., Imai, N., Yoshida, S., Toya, Y. ... Umemura, S. (2006). Apelin stimulates myosin light chain phosphorylation in vascular smooth muscle cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 26(6), 1267–1272. DOI: 10.1161/01.ATV.0000218841.39828.91
- Hosoya, M., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Fujii, R., Habata, Y., Hinuma, S., ... Fujino, M. (2000). Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *Journal of Biological Chemistry*, 275(28), 21061–21067. DOI: 10.1074/jbc.M908417199
- Huang, P., Fan, X. F., Pan, L. X., Gao, Y. Q., Mao, S. Z., Hu, L. G., Gong, Y. S. (2011). Effect of apelin on vasodilatation of isolated pulmonary arteries in rats is concerned with the nitric oxide pathway. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*, 27(1), 1-5.
- Hussain, M. B., Hobbs, A. J., & MacAllister. R. J. (1999). Autoregulation of nitric oxide-soluble guanylate cyclase-cyclic GMP signalling in mouse thoracic aorta. *British Journal of Pharmacology*, 128, 1082-1088. DOI: 10.1038/sj.bjp.0702874
- Ignarro, L. J., Byrns, R. E., & Wood, K. S. (1988). Biochemical and Pharmacological Properties of Endothelium-Derived Relaxing Factor and its Similarity to Nitric Oxide Radical. *Vasodilatation: Vascular Smooth Muscle Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium*. In: Vanhoutte PM, editor (p.427-436). New York: Raven Press.
- Iturrioz, X., Alvear-Perez, R., De Mota, N., Franchet, C., Guillier, F., Leroux, V., ... Llorens-Cortes, C. (2010). Identification and pharmacological properties of E339-3D6, the first nonpeptidic apelin receptor agonist. *FASEB Journal*, 24(5), 1506-1517. DOI.org/10.1096/fj.09-140715
- Jackson, W. F. (2000). Ion Channels and Vascular Tone. *Hypertension*, 35(1 Pt 2), 173-178. DOI: 10.1161/01.hyp.35.1.173
- Jackson, W. F., & Blair, K. L. (1998). Characterization and function of Ca⁺⁺-activated K⁺ channels in hamster cremasteric arteriolar muscle cells. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 274, H27–H34. DOI:10.1152/ajpheart.1998.274.1.H27

- Jaggari, J. H., Wellman, G. C., Heppner, T. J., Porter, V. A., Perez, G. J., Gollasch, M., ... Nelson, M. T. (1998). Ca^{2+} channels, ryanodine receptors and Ca^{2+} -activated K^+ channels: a functional unit for regulating arterial tone. *Acta Physiologica Scandinavica*, 164, 577–587. DOI: 10.1046/j.1365-201x.1998.00462.x
- Japp, A. G., Cruden, N. L., Amer, D. A., Li, V. K., Goudie, E. B., Johnston, N. R., ... Newby, D. E. (2008) Vascular effects of Apelin in vivo in man. *Journal of the American College of Cardiology*, 52, 908–913. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.06.013
- Japp, A. G., Cruden, N. L., Barnes, G., van Gemenen, N., Mathews, J., Adamson, J., ... Newby, D. E. (2010). Acute cardiovascular effects of apelin in humans: potential role in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 121, 1818–1827. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.911339
- 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
- Jia, Y. X., Lu, Z. F., Zhang, J., Pan, C. S., Yang, J. H., Zhao, J., ... Qi, Y. F. (2007). Apelin activates L-arginine/nitric oxide synthase/nitric oxide pathway in rat aortas. *Peptides*, 28, 2023–2029. DOI: 10.1016/j.peptides.2007.07.016
- Joshi, S., Nelson, M. T., Werner, M. E. (2012). Amplified NO/cGMP-mediated relaxation and ryanodine receptor-to-BKCa channel signalling in corpus cavernosum smooth muscle from phospholamban knockout mice. *British Journal of Pharmacology*, 165(2), 455-466. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01569.x
- Kagiyama, S., Fukuhara, M., Matsumura, K., Lin, Y., Fujii, K., & Iida, M. (2005). Central and peripheral cardiovascular actions of apelin in conscious rats. *Regulatory Peptides*, 125(1–3), 55–59. DOI: 10.1016/j.regpep.2004.07.033
- Katugampola, S. D., Maguire, J. J., Matthewson, S. R., & Davenport, A. P. (2001). [(125)I]-(Pyr(1))Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *British Journal of Pharmacology*, 132(6), 1255–1260. DOI: 10.1038/sj.bjp.0703939
- Klein, M. J., & Davenport, A. P. (2005). Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology & Therapeutics*, 107, 198–211. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2005.04.001
- Klemke, R. L., Cai, S., Giannini, A. L., Gallagher, P. J., de Lanerolle, P., & Chersesh, D. A. (1997). Regulation of cell motility by mitogen-activated protein kinase. *Journal of Cell Biology*, 137(2), 481–492. DOI: 10.1083/jcb.137.2.481
- Knot, H. J., Standen, N. B., & Nelson, M. T. (1998). Ryanodine receptors regulate arterial diameter and wall $[\text{Ca}^{2+}]$ in cerebral arteries of rat via Ca^{2+} -dependent K^+ channels. *The Journal of Physiology*, 508, 211–221. DOI: 10.1111/j.1469-7793.1998.211br.x

- Kohlstedt, K., Trouvain, C., Boettger, T., Shi, L., Fisslthaler, B., & Fleming, I. (2013). AMP-activated protein kinase regulates endothelial cell angiotensin converting enzyme expression via p53 and the post-transcriptional regulation of microRNA-143/145. *Circulation Research*, 112, 1150–1158. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301282
- Koller, A., & Kaley, G. (1990). Prostaglandins mediate arteriolar dilation to increased blood flow velocity in skeletal muscle microcirculation. *Circulation Research*, 67, 529–534. DOI: 10.1161/01.res.67.2.529
- Koller, A., Sun, D., & Kaley, G. (1993). Role of shear stress and endothelial prostaglandins in flow- and viscosity-induced dilation of arterioles in vitro. *Circulation Research*, 72, 1276–1284. DOI: 10.1161/01.res.72.6.1276
- Kolluru, G. K., Siamwala, J. H., & Chatterjee, S. (2010). eNOS phosphorylation in health and disease. *Biochimie*, 92, 1186-1198. DOI: 10.1016/j.biochi.2010.03.020
- Kuba, K., Sato, T., Imai, Y., & Yamaguchi, T. (2019). Apelin and Elabela/Toddler; double ligands for APJ/Apelin receptor in heart development, physiology, and pathology. *Peptides*, 111, 62-70. DOI: 10.1016/j.peptides.2018.04.011
- Kuchan, M. J., & Frangos, J. A. (1994). Role of calcium and calmodulin in flow-induced nitric oxide production in endothelial cells. *American Journal of Physiology*, 266, C628-C636. DOI: 10.1152/ajpcell.1994.266.3.C628
- Lange, A., Gebremedhin, D., Narayanan, J., & Harder, D. (1997). 20-Hydroxyeicosa-tetraenoic acid-induced vasoconstriction and inhibition of potassium current in cerebral vascular smooth muscle is dependent on activation of protein kinase C. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 27345–27352. DOI: 10.1074/jbc.272.43.27345
- Lee, D. K., Cheng, R., Nguyen, T., Fan, T., Kariyawasam, A. P., Liu, Y., ... O'Dowd, B. F. (2000). Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *Journal of Neurochemistry*, 74, 34–41. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2000.0740034.x
- Lee, D. K., Saldivia, V. R., Nguyen, T., Cheng, R., George, S. R., & O'Dowd, B. F. (2005). Modification of the terminal residue of apelin-13 antagonizes its hypotensive action. *Endocrinology*, 146, 231–236. DOI: 10.1210/en.2004-0359
- Li, S., Li, Q., Lv, X., Liao, L., Yang, W., Li, S., ... Zhu, D. (2015). Aurantio-obtusin relaxes systemic arteries through endothelial PI3K/AKT/eNOS-dependent signaling pathway in rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, 128, 108-115. DOI: 10.1016/j.jphs.2015.05.006
- Liang, B., Wang, S., Wang, Q., Zhang, W., Viollet, B., Zhu, Y. & Zou, M. H. (2013). Aberrant endoplasmic reticulum stress in vascular smooth muscle increases vascular contractility and blood pressure in mice deficient of AMP-activated protein kinase- α 2 in vivo. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2013, 33, 595–604. DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.300606

- Liu, Y., Pleyte, K., Knaus, H. G., & Rusch, N. J. (1997). Increased expression of Ca²⁺-sensitive K⁺ channels in aorta of hypertensive rats. *Hypertension*, 30, 1403–1409. DOI: 10.1161/01.hyp.30.6.1403
- Loeb, A. L., Gšdény, I., & Longnecker, D. E. (2000). Functional evidence for inward-rectifier potassium channels in rat cremaster muscle arterioles. *Microvascular Research*, 59(1), 1-6. DOI: 10.1006/mvre.1999.2187
- Lyons, C. L., & Roche, H. M. (2018). AMPK, Nutritional Modulation of AMPK-Impact upon Metabolic-Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3092. DOI: 10.3390/ijms19103092
- Maguire, J. J., Kleinz, M. J., Pitkin, S. L., & Davenport, A. P. (2009). [Pyr1]apelin-13 identified as the predominant apelin isoform in the human heart: vasoactive mechanisms and inotropic action in disease. *Hypertension*, 54(3), 598–604. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA
- Marsault, E., Llorens-Cortes, C., Iturrioz, X., Chun, H. J., Lesur, O., & Auger-Messier, M. (2019). The apelinergic system: a perspective on challenges and opportunities in cardiovascular and metabolic disorders. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1455, 12–33. DOI: 10.1111/nyas.14123
- Modgil, A., Guo, L., O'Rourke, S. T., & Sun, C. (2013). Apelin-13 inhibits large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels in cerebral artery smooth muscle cells via a PI3-kinase dependent mechanism. *PLoS One*, 8(12), 83051. DOI: 10.1371/journal.pone.0083051
- Moncada, S., & Higgs, E. A. (2006). Nitric oxide and the vascular endothelium. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 213-254. DOI: 10.1007/3-540-32967-6_7
- Moreau, R., Hurst, A.M., Lapointe, J. Y., & Lajeunesse, D. (1996). Activation of maxi-K channels by parathyroid hormone and prostaglandin E2 in human osteoblast bone cells. *The Journal of Membrane Biology*, 150, 175-184.
- Morrow, V. A., Fougelle, F., Connell, J. M., Petrie, J. R., Gould, G. W., & Salt, I. P. (2003). Direct activation of AMP-activated protein kinase stimulates nitric-oxide synthesis in human aortic endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 31629–31639. DOI: 10.1074/jbc.M212831200
- Mozaffarian, D., Benjamin, E. J., Go, A. S., Arnett, D. K., Blaha, M. J., Cushman, M., ... Turner, M. B. (2015). Heart disease and stroke statistics 2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 131, e29–e322. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000152
- Mughal, A., Sun, C., & O'Rourke, S. T. (2018a). Activation of Large Conductance, Calcium-Activated Potassium Channels by Nitric Oxide Mediates Apelin-Induced Relaxation of Isolated Rat Coronary Arteries. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 366, 265-273. DOI: 10.1124/jpet.118.248682

- Mughal, A., Sun, C., & O'Rourke, S. T. (2018b). Apelin Reduces Nitric Oxide-Induced Relaxation of Cerebral Arteries by Inhibiting Activation of Large-Conductance, Calcium-Activated K Channels. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 71(4), 223-232. DOI: 10.1097/FJC.0000000000000563
- Mughal, A., & O'Rourke, S. T. (2018). Vascular effects of apelin: Mechanisms and therapeutic potential. *Pharmacology & Therapeutics*, 190, 139-147. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.05.013
- Murad, F. (1999). Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling (Nobel lecture). *Angewandte Chemie International Edition*, 38, 1856-1868. DOI: 10.1007/s10540-005-2741-8
- Murza, A., Sainsily, X., Coquerel, D., Côté, J., Marx, P., Besserer-Offroy, É., ... Marsault, É. (2016). Discovery and structure-activity relationship of a bioactive fragment of ELABELA that modulates vascular and cardiac functions. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59, 2962–7292. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01549
- Nagano, K., Ishida, J., Unno, M., Matsukura, T., & Fukamizu, A. (2013). Apelin elevates blood pressure in ICR mice with L-NAME-induced endothelial dysfunction. *Molecular Medicine Reports*, 7(5), 1371–1375. DOI: 10.3892/mmr.2013.1378
- Najafipour, H., Soltani Hekmat, A., Nekooian, A. A., & Esmaeili-Mahani, S. (2012). Apelin receptor expression in ischemic and non ischemic kidneys and cardiovascular responses to apelin in chronic two-kidney-one-clip hypertension in rats. *Regulatory Peptides*, 178, 43–50. DOI: 10.1016/j.regpep.2012.06.006
- Napoli, C., & Ignarro, L.J. (2001). Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric Oxide*, 5, 88-97. DOI: 10.1006/niox.2001.0337
- 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
- Nelson, M. T., & Quayle, J. M. (1995). Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *American Journal of Physiology*, 268, C799–C822. DOI: 10.1152/ajpcell.1995.268.4.C799
- O'Carroll, A. M., Lolait, S. J., Harris, L. E., & Pope, G. R. (2013). The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *The Journal of Endocrinology*, 219(1), R13–R35. DOI: 10.1530/JOE-13-0227
- O'Dowd, B. F., Heiber, M., Chan, A., Heng, H. H., Tsui, L. C., Kennedy, J. L., ... Nguyen, T. (1993). A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, 136(1–2), 355–360. DOI: 10.1016/0378-1119(93)90495-o

- Oeckler, R. A., Kaminski, P. M., & Wolin, M. S. (2003). Stretch enhances contraction of bovine coronary arteries via an NADPH oxidase-mediated activation of the extracellular signal-regulated mitogen-activated protein kinase cascade. *Circulation Research*, 92(1), 23–31. DOI: 10.1161/01.res.0000051860.84509.ce
- Okada, Y., Yanagisawa, T., & Taira, N. (1993). BRL 38227 (levcromakalim)-induced hyperpolarization reduces the sensitivity to Ca²⁺ of contractile elements in canine coronary artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 347, 438–444. DOI: 10.1007/BF00165396
- Ozen, G., Gomez, I., Daci, A., Deschildre, C., Boubaya, L., Teskin, O., ... Norel, X. (2017). Inhibition of microsomal PGE synthase-1 reduces human vascular tone by increasing PGI₂: a safer alternative to COX-2 inhibition. *British Journal of Pharmacology*, 174, 4087–4098. DOI: 10.1111/bph.13939
- Parsons, M. E., & Ganellin, C. R. (2006). Histamine and its receptors. *British Journal of Pharmacology*, 147, S127-S135. DOI: 10.1038/sj.bjp.0706440
- Paterno, R., Faraci, F. M., & Heistad, D. D. (1996). Role of Ca²⁺-dependent K⁺ channels in cerebral vasodilatation induced by increases in cyclic GMP and cyclic AMP in the rat. *Stroke*, 27, 1603–1607. DOI: 10.1161/01.str.27.9.1603
- Pauli, A., Norris, M. L., Valen, E., Chew, G. L., Gagnon, J. A., Zimmerman, S., ... Schier, A. F. (2014). Toddler: an embryonic signal that promotes cell movement via Apelin receptors. *Science*, 343, 1248636. DOI: 10.1126/science.1248636
- Perjés, Á., Kilpiö, T., Ulvila, J., Magga, J., Alakoski, T., Szabó, Z., ... Kerkelä, R. (2016). Characterization of apela, a novel endogenous ligand of apelin receptor, in the adult heart. *Basic Research in Cardiology*, 111, 2. DOI: 10.1007/s00395-015-0521-6
- Perjés, A., Skoumal, R., Tenhunen, O., Kónyi, A., Simon, M., Horváth, I. G., ... Szokodi, I. (2014). Apelin increases cardiac contractility via protein kinase C epsilon- and extracellular signal-regulated kinase-dependent mechanisms. *PLoS One*, 9(4), e93473. DOI: 10.1371/journal.pone.0093473
- Pitkin, S. L., Maguire, J. J., Kuc, R. E., & Davenport, A. P. (2010). Modulation of the apelin/APJ system in heart failure and atherosclerosis in man. *British Journal of Pharmacology*, 160, 1785–1795. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.00821.x
- Read, C., Nyimanu, D., Williams, T. L., Huggins, D. J., Sulentic, P., Macrae, R. G. C., ... Davenport, A. P. (2019). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CVII. Structure and Pharmacology of the Apelin Receptor with a Recommendation that Elabela/Toddler Is a Second Endogenous Peptide Ligand. *Pharmacological reviews*, 71(4), 467–502. DOI: 10.1124/pr.119.017533

- Reaux, A., De Mota, N., Skultetyova, I., Lenkei, Z., El Messari, S., Gallatz, K., ... Llorens-Cortes, C. (2001). Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 77(4), 1085–1096. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2001.00320.x
- Rikitake, Y. (2020). The apelin/APJ system in the regulation of vascular tone: friend or foe?. *The Journal of Biochemistry*, 0(0), 1–4. DOI: 10.1093/jb/mvaa129
- Roberts, R. E. (2001). Role of the extracellular signal-regulated kinase (ERK) signal transduction cascade in α 2-adrenoceptor-mediated vasoconstriction in porcine palmar lateral vein. *British Journal of Pharmacology*, 133(6), 859–866. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704149
- Roberts, R. E. (2004). The role of Rho kinase and extracellular regulated kinase-mitogen-activated protein kinase in α 2-adrenoceptor-mediated vasoconstriction in the porcine palmar lateral vein. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 311(2), 742–747. DOI: 10.1124/jpet.104.071100
- Roberts, R. E. (2012). The extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway: a potential therapeutic target in hypertension. *Journal of Experimental Pharmacology*, 4, 77–83. DOI: 10.2147/JEP.S28907
- Ruiz-Velasco, V., & Ikeda, S. R. (1998). Heterologous expression and coupling of G protein-gated inwardly rectifying K⁺ channels in adult rat sympathetic neurons. *The Journal of Physiology*, 513, 761–773.
- Rusch, N. J., & Liu, Y. (1997). Potassium channels in hypertension: homeostatic pathways to buffer arterial contraction. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 130, 245–251. DOI: 10.1016/s0022-2143(97)90018-4
- Sakuma, I., Stuehr, D. J., Gross, S. S., Nathan, C., & Levi, R. (1988). Identification of arginine as a precursor of endothelium-derived relaxing factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85, 8664–8667. DOI: 10.1073/pnas.85.22.8664
- Salcedo, A., Garijo, J., Monge, L., Fernández, N., García-Villalón, A. L., Turrión, V. S., ... Diéguez, G. (2007). Apelin effects in human splanchnic arteries. Role of nitric oxide and prostanoids. *Regulatory Peptides*, 144, 50–55. DOI: 10.1016/j.regpep.2007.06.005
- Salt, I. P., & Hardie, D. G. (2017). AMPK, AMP-Activated Protein Kinase: An Ubiquitous Signaling Pathway With Key Roles in the Cardiovascular System. *Circulation Research*, 120(11), 1825–1841. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309633
- Sato, T., Sato, C., Kadowaki, A., Watanabe, H., Ho, L., Ishida, J., ... Kuba, K. (2017) ELABELA-APJ axis protects from pressure overload heart failure and angiotensin II-induced cardiac damage. *Cardiovascular Research*, 113(7), 760–769. DOI: 10.1093/cvr/cvx061

- Serebryakov, V., Zakharenko, S., Snetkov, V., & Takeda, K. (1994). Effect of Prostaglandins E1 AND E2 on cultured Smooth Muscle Cells and Strips of Rat Aorta. *Prostaglandins*, 47, 353-365.
- Schneider, H., Schubert, K. M., Blodow, S., Kreutz, C. P., Erdogmus, S., Wiedenmann, M., ... Pohl, U. (2015). AMPK dilates resistance arteries via activation of SERCA and BK_{Ca} channels in smooth muscle. *Hypertension*, 66, 108–116. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05514
- Sessa, W. C. (2004). eNOS at a glance. *Journal of Cell Science*, 117, 2427-2429. DOI: 10.1242/jcs.01165
- Seyedabadi, M., Goodchild, A. K., & Pilowsky, P. M. (2002). Site-specific effects of apelin-13 in the rat medulla oblongata on arterial pressure and respiration. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 101, 32–38. DOI: 10.1016/s1566-0702(02)00178-9
- Shin, K., Kenward C., & Rainey, J. K. (2017). Apelinergic System Structure and Function. *Comprehensive Physiology*, 8(1), 407-450. DOI: 10.1002/cphy.c170028
- Siegel, G., Carl, A., Adler, A., & Stock, G. (1989). Effect of the prostacyclin analogue iloprost on K⁺ permeability in the smooth muscle cells of the canine carotid artery. *Eicosanoids*, 2, 213-222.
- Siragusa, M., & Fleming, I. (2016). The eNOS signalosome and its link to endothelial dysfunction. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 468, 1125–1137. DOI: 10.1007/s00424-016-1839-0
- Smith, J. B., Araki, H., & Lefler, A. M. (1980). Thromboxane A2, prostacyclin and aspirin: effects on vascular tone and platelet aggregation. *Circulation*, 62(6 pt 2), (V19–V25).
- Soltis, E. E., & Cassis, L. A. (1991). Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. *Clinical and Experimental Hypertension*, 13, 277-296. DOI: 10.3109/10641969109042063
- SoRelle, R. (1998). Nobel prize awarded to scientists for nitric oxide discoveries. *Circulation*, 98, 2365-2366. DOI: 10.1161/01.cir.98.22.2365
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., ... Fujino, M. (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 251(2), 471-476. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9489
- Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M. X., Kumaki, I., Zhang, W., Kumano, K., & Fujimiya, M. (2001). The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regulatory Peptides*, 99, 87–92. DOI: 10.1016/s0167-0115(01)00236-1

Thomas, S. R., Chen, K., & Keaney, J. F. (2002). Hydrogen peroxide activates endothelial nitric-oxide synthase through coordinated phosphorylation and dephosphorylation via a phosphoinositide 3-kinase-dependent signaling pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 6017-6024. DOI: 10.1074/jbc.M109107200

Toda, N., Ayajiki, K., & Okamura, T. (2012). Neurogenic and endothelial nitric oxide regulates blood circulation in lingual and other oral tissues. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 60, 100-108. DOI: 10.1097/FJC.0b013e318252452a

Tsutsui, M., Tanimoto, A., Tamura, M., Mukae, H., Yanagihara, N., Shimokawa, H., & Otsuji, Y. (2015). Significance of nitric oxide synthases: lessons from triple nitric oxide synthases null mice. *Journal of Pharmacological Sciences*, 127, 42-52. DOI: 10.1016/j.jphs.2014.10.002

Tyckocki, N. R., Boerman, E. M., & Jackson, W. F. (2017). Smooth Muscle Ion Channels and Regulation of Vascular Tone in Resistance Arteries and Arterioles. *Comprehensive Physiology*, 7(2), 485–581. DOI: 10.1002/cphy.c160011

Vanhoutte, P. M., Shimokawa, H., Tang, E. H., & Feletou, M. (2009). Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiologica*, 196, 193-222. DOI: 10.4103/1673-5374.297062

Verma, T., Sinha, M., Bansal, N., Yadav, S. R., Shah, K., & Chauhan, N. S. (2020). Plants Used as Antihypertensive. *Natural Products and Bioprospecting*, DOI: 10.1007/s13659-020-00281-x

Walch, L., Brink, C., & Norel, X. (2000). The muscarinic receptor subtypes in human blood vessels. *Therapie*, 56, 223-226.

Wang, L. Y., Zhang, D. L., Zheng, J. F., Zhang, Y., Zhang, Q. D., & Liu, W. H. (2011). Apelin-13 passes through the ADMA damaged endothelial barrier and acts on vascular smooth muscle cells. *Peptides*, 32, 2436–2443. DOI: 10.1016/j.peptides.2011.10.001

Wang, R., Wang, Z., & Wu, L. (1997). Carbon monoxide-induced vasorelaxation and the underlying mechanisms. *British Journal of Pharmacology*, 121, 927–934. DOI: 10.1038/sj.bjp.0701222

Wang, S., Xu, J., Song, P., Viollet, B., & Zou, M. H. (2009). In vivo activation of AMP-activated protein kinase attenuates diabetes-enhanced degradation of GTP cyclohydrolase I. *Diabetes*, 58, 1893–1901. DOI: 10.2337/db09-0267

Wang, Z., Yu, D., Wang, M., Wang, Q., Kouznetsova, J., Yang, R., ... Gong, D. W. (2015). Elabela-apelin receptor signaling pathway is functional in mammalian systems. *Scientific Reports*, 5, 8170. DOI: 10.1038/srep08170

- Weisbrod, R. M., Griswold, M. C., Yaghoubi, M., Komalavilas, P., Lincoln, T. M., & Cohen, R. A. (1998). Evidence that additional mechanisms to cyclic GMP mediate the decrease in intracellular calcium and relaxation of rabbit aortic smooth muscle to nitric oxide. *British Journal of Pharmacology*, 125, 1695-1707. DOI: 10.1038/sj.bjp.0702233
- Wong, S. L., Leung, F. P., Lau, C. W., Au, C. L., Yung, L. M., Yao, X., ... Huang, Y. (2009). Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin F2alpha mediates endothelium-dependent contractions in the aortae of hamsters with increased impact during aging. *Circulation Research*, 104, 228–235. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.108.179770
- Wysocka, M. B., Pietraszek-Gremplewicz, K., & Nowak, D. (2018). The Role of Apelin in Cardiovascular Diseases, Obesity and Cancer. *Frontiers in Physiology*, 9, 557. DOI: 10.3389/fphys.2018.00557
- Xu, J., Chen, L., Jiang, Z., & Li, L. (2018). Biological functions of Elabela, a novel endogenous ligand of APJ receptor. *Journal of Cellular Physiology*, 233(9), 6472-6482. DOI: 10.1002/jcp.26492
- Yamaleyeva, L. M., Shaltout, H. A., & Varagic, J. (2016). Apelin-13 in blood pressure regulation and cardiovascular disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 25(5), 396-403. DOI: 10.1097/MNH.0000000000000241
- Yan, T., Zhang, J., Tang, D., Zhang, X., Jiang, X., Zhao, L., ... Huang, Y. (2017). Hypoxia Regulates mTORC1-Mediated Keratinocyte Motility and Migration via the AMPK pathway. *Plos One*, 12, e0169155. DOI: 10.1371/journal.pone.0169155
- Yang, P., Maguire, J. J., & Davenport, A. P. (2015). Apelin, Elabela/Toddler, and biased agonists as novel therapeutic agents in the cardiovascular system. *Trends in Pharmacological Sciences*, 36(9), 560-567. DOI: 10.1016/j.tips.2015.06.002
- Yang, P., Read, C., Kuc, R. E., Buonincontri, G., Southwood, M., Torella, R., ... Davenport A. P., (2017). Elabela/Toddler Is an Endogenous Agonist of the Apelin APJ Receptor in the Adult Cardiovascular System, and Exogenous Administration of the Peptide Compensates for the Downregulation of Its Expression in Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation*, 135(12), 1160-1173. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023218
- Yao, F., Modgil, A., Zhang, Q., Pingili, A., Singh, N., O'Rourke, S. T., & Sun, C. (2011). Pressor effect of apelin-13 in the rostral ventrolateral medulla: role of NAD(P)H oxidase-derived superoxide. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 336, 372-380. DOI: 10.1124/jpet.110.174102
- Zhang, F., Sun, H. J., Xiong, X. Q., Chen, Q., Li, Y. H., & Kang, Y. M. (2014). Apelin-13 and APJ in paraventricular nucleus contribute to hypertension via sympathetic activation and vasopressin release in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiologica (Oxford)*, 212, 17–27. DOI: 10.1111/apha.12342

- Zhang, Q., Yao, F., Raizada, M. K., O'Rourke, S. T., & Sun, C. (2009). Apelin gene transfer into the rostral ventrolateral medulla induces chronic blood pressure elevation in normotensive rats. *Circulation Research*, 104, 1421-1428. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.108.192302
- Zhang, S. Y., Chen, G., Wei, P. F., Huang, X. S., Dai, Y., Shen, Y. J., ... Xu, H. X. (2008). The effect of puerarin on serum nitric oxide concentration and myocardial eNOS expression in rats with myocardial infarction. *Journal of Asian Natural Products Research*, 10, 323-328. DOI: 10.1080/10286020801892250
- Zhang, Y., Wang, Y., Lou, Y., Luo, M., Lu, Y., Li, Z., ... Miao, L. (2018). Elabela, a newly discovered APJ ligand: Similarities and differences with Apelin. *Peptides*, 109, 23-32. DOI: 10.1016/j.peptides.2018.09.006
- Zhao, Y., Vanhoutte, P. M., & Leung, S. W. S. (2015). Vascular nitric oxide: Beyond Enos. *Journal of Pharmacological Sciences*, 129(2), 83-94. DOI: 10.1016/j.jphs.2015.09.002
- Zhen, E. Y., Higgs, R. E., & Gutierrez, J. A. (2013). Pyroglutamyl apelin-13 identified as the major apelin isoform in human plasma. *Analytical Biochemistry*, 442(1), 1-9. DOI: 10.1016/j.ab.2013.07.006
- Zhong, J. C., Huang, Y., Yung, L. M., Lau, C. W., Leung, F. P., Wong, W. T., ... Yu, X. Y. (2007a). The novel peptide apelin regulates intrarenal artery tone in diabetic mice. *Regulatory Peptides*, 144(1-3), 109-114. DOI: 10.1016/j.regpep.2007.06.010
- Zhong, J. C., Yu, X. Y., Huang, Y., Yung, L. M., Lau, C. W., & Lin, S. G. (2007b). Apelin modulates aortic vascular tone via endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway in diabetic mice. *Cardiovascular Research*, 74(3), 388-395. DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.02.002
- Zhu, L., Xu, C., Huo, X., Hao, H., Wan, Q., Chen, H., Wang, M. (2019). The cyclooxygenase-1/mPGES-1/endothelial prostaglandin EP4 receptor pathway constrains myocardial ischemia-reperfusion injury. *Nature Communications*, 10, 1888. DOI: 10.1038/s41467-019-09492-4
- Zhu, S., Sun, F., Li, W., Cao, Y., Wang, C., Wang, Y., ... Cao, F. (2011). Apelin stimulates glucose uptake through the PI3K/Akt pathway and improves insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 353, 305-313. DOI: 10.1007/s11010-011-0799-0
- Zhu, L., Zhang, Y., Guo, Z., & Wang, M. (2020). Cardiovascular Biology of Prostanoids and Drug Discovery. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 40, 1454-1463. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.313234

Zygmunt, P. M., Plane, F., Paulsson M., Garland, C. J., & Högestätt, E. D. (1998). Interactions between endothelium-derived relaxing factors in the rat hepatic artery: focus on regulation of EDHF. *British Journal of Pharmacology*, 124, 992–1000. DOI: 10.1038/sj.bjp.0701893

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

[Pyr1]apelin-13: *Pyroglutamyl* apelin-13
°C: Santigrat derece
µg: Mikrogram
µl: Mikrolitre
µM: Mikromolar
α: Alfa
ACE 2: Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2
Ach: Asetilkolin
ADMA: Asimetrik dimetil arginin
ADP: Adenozin difosfat
AICAR: *5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-β-D-ribofuranoside*
Akt: Protein kinaz B
AMP: Adenozin monofosfat
AMPK: Adenozin monofosfat ile aktiflenen protein kinaz
Ang II: Anjiyotensin II
APJ: Apelin reseptörü
AT1A: Anjiyotensin II tip 1A reseptörü
ATP: Adenozin trifosfat
BH4: Tetrahidrobiopterin
BK_{Ca}: Büyük kondüktanslı kalsiyum ile aktiflenen potasyum kanalı
Ca²⁺: Kalsiyum
CaCl₂: Kalsiyum klorür
cAMP: Siklik adenozin monofosfat
cGMP: Siklik guanozin monofosfat
Cl⁻: Klor
CO₂: Karbondioksit
COX: Siklooksijenaz
Coxib: COX 2 selektif inhibitörü
DAG: Diaçilgliserol
DMSO: Dimetil sülfoksit
DP: Prostaglandin D reseptörü
Ela: Elabela
eNOS: Endotelial nitrik oksit sentaz
EP: Prostaglandin E reseptörü
ERK: Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz
ET-1: Endotelin-1
FP: Prostaglandin F reseptörü
GEF: Guanin nükleotid değiştirici faktör
H⁺: Hidrojen
H₂O: Su
IP: Prostasiklin reseptörü
IP₃: İnositol trifosfat
IP₃R: İnositol trifosfat reseptör kanalı
iNOS: Sitokinle uyarılan nitrik oksit sentaz
İSV: İnteraserebroventriküler
İV: İntravenöz

K⁺: Potasyum
K_{2P}: 2 porlu potasyum kanalı
K_{ATP}: ATP duyarlı potasyum kanalı
KCl: Potasyum klorür
KH₂PO₄: Potasyum dihidrojen fosfat
K_{IR}: İçeri doğrultucu potasyum kanalı
K_V: Voltaja duyarlı potasyum kanalı
l: Litre
L-NAME: N(ω)-nitro-L-arginin metil ester
M: Molar
MAP2K: Mitojenle aktiflenen protein kinaz kinaz
MAP3K: Mitojenle aktiflenen protein kinaz kinaz kinaz
MAPK: Mitojenle aktiflenen protein kinaz
MEK: Mitojenle aktiflenen protein kinaz kinaz
Mg₂SO₄: Magnezyum sülfat
ml: Mililitre
MLC: Miyozin hafif zinciri
MLCK: Miyozin hafif zincir kinaz
MLCP: Miyozin hafif zincir fosfataz
mM: Milimolar
mPGES-1: Mikrozomal PGE sentaz-1
mRNA: Mesajcı ribonükleik asit
Na⁺: Sodyum
NaCl: Sodyum klorür
NaHCO₃: Sodyum bikarbonat
NCX: Na⁺-Ca²⁺ değiştiricisi
NE: Norepinefrin
NHE: Na⁺-H⁺ değiştiricisi
nNOS: Nöronal nitrik oksit sentaz
NO: Nitrik oksit
NOS: Nitrik oksit sentaz
NSAIDs: Non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar
O₂: Oksijen
OAKB: Ortalama arteryel kan basıncı
pg: Pikogram
PG: Prostaglandin
PGDS: PGD sentaz
PGFS: PGF sentaz
PGI₂: Prostatiklin
PGIS: PGI sentaz
PI3K: Fosfatidilinositol 3-kinaz
PKA: Protein kinaz A
PKC: Protein kinaz C
PLA₂: Fosfolipaz A₂
PLC: Fosfolipaz C
PO₄: Fosfat
PVN: Paraventriküler nükleus
RAAS: Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi

ROC: Reseptör kontrollü kalsiyum kanalı
RVLM: Rostral venrolateral medulla
RyR: Riyanodin reseptör kanalı
sGS: *Soluble* guanilat siklaz
SOC: Depo kontrollü kalsiyum kanalı
SR: Sarkoplazmik retikulum
TEA: Tetraetil amonyum
TP: Tromboksan A₂ reseptörü
TxA₂: Tromboksan A₂
TxS: Tromboksan sentaz
VDCC: Voltaj kapılı kalsiyum kanalı
VEC: Vasküler endotelyal hücre
VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VSMC: Vasküler düz kas hücresi
 α : Alfa
 β : Beta
 γ : Gama
 ω : Omega

8. EKLER

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

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	<i>Endojen Apelin Reseptör Ligandlarının Vasküler Kontraktiliteye Etkisi ve Olası Etki Mekanizmalarının Araştırılması</i>
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Prof. Dr. Naciye İŞBİL BUÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji AD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Arş. Gör. Dr. Serdar ŞAHİNTÜRK Prof. Dr. Fadil ÖZYENER Arş. Gör. Sadettin DEMİREL
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Serdar ŞAHİNTÜRK'ün Doktora Tez Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	01.09.2019 – 01.09.2021
	KULLANILACAK HAYVAN TURU VE SAYISI	210 Adet Erkek Sıçan

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	01.04.2019

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2019 - 04 / 11	Tarih : 03.04.2019
	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. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması, 3) Deneysel 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 Üyeligi	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 KÜÇÜKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DEHYUAM	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			

9. TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yürütülmesi ve doktora eğitimim süresince desteğini esirgemeyen ve yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Naciye İŞBİL'e, tez izlem sürecindeki katkılarından dolayı anabilim dalımız öğretim üyesi Prof. Dr. Fadıl ÖZYENER ve fakültemiz Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet CANSEV'e, doktora eğitimime katkılarından dolayı anabilim dalımız öğretim üyeleri Prof. Dr. Tülin ALKAN, Prof. Dr. Nevzat KAHVECİ ve Doç. Dr. Bülent GÖREN'e, bilgi birikimini hiçbir zaman esirgemeyen anabilim dalımız emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK'e, tez çalışmamdaki deneysel aşamalara yardım eden Dr. Sadettin DEMİREL'e, tez projemi destekleyen TÜBİTAK'a, her an yanımda olan sevgili eşim ve en büyük destekçim Uzm. Dr. Kadriye ŞAHİNTÜRK'e ve canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

10. ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Giresun'da doğmuştur. İlköğretimi Espiye Şehit Hüseyin Tahmaz İlköğretim Okulu'nda okumuştur. Orta öğretimi Giresun Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamlamıştır. 2005 yılında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'ne başlamıştır. 2011 yılında tıp fakültesinden mezun olmuştur. Aynı yıl araştırma görevlisi doktor olarak Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda çalışmaya başlamıştır. 2015 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi doktor olarak atanmıştır ve aynı bölümde doktora eğitimine başlamıştır. 2021 yılında doktora mezun olmuştur.