RAT TORASİK AORTUNUN VASOMOTOR AKTİVİTESİ ÜZERİNE 4-HYDROXYACETOPHENONE'UN ETKİLERİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

Volkan GELEN
Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

Doktora Tezi - 2015

T.C.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RAT TORASİK AORTUNUN VASOMOTOR AKTİVİTESİ ÜZERİNE 4-HYDROXYACETOPHENONE'UN ETKİLERİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

Volkan GELEN

Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

ERZURUM
2015

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

RAT TORASİK AORTUNUN VASOMOTOR AKTİVİTESİ ÜZERİNE 4-HYDROXYACETOPHENONE'UN ETKİLERİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

Volkan GELEN

Tez Savunma Tarihi : 17.08.2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. D. Ali ÇINAR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mesut Bünyamin HALICI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Hasan Hüseyin ARI (Cumhuriyet Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni EROĞLU (Kafkas Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Doktora Tezi
ERZURUM - 2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **III**

ÖZET ..... **IV**

ABSTRACT ..... **V**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **VI**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **VII**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **XII**

1. GİRİŞ **1**

2. GENEL BİLGİLER **4**

2.1. Ziziphora clinopoides Lam. (Kır nanesi) 4

2.1.1. 4-hydroxyacetophenone (4-HAP) 9

2.2. Kas 10

2.2.1. Düz kasların özellikleri 10

2.2.2. Düz Kas Kontraktilitesinin Moleküler Mekanizmaları 12

2.2.3. Düz Kas Gevşemesinin Moleküler Mekanizmaları 14

2.3. Dolaşım sistemi 15

2.3.1. Kan damarları 15

2.3.2. Kan damarlarının embriyonel gelişimi 16

2.3.3. Kan damarlarının genel yapısı 16

2.3.4. Arterler 18

2.3.4.1. Elastik arterler 18

2.3.5. Damar Tonusun Düzenlenmesinde Etkili Faktörler 20

2.4. Damar Düz Kasında Bulunan İyon Kanalları 29

2.4.1. Kalsiyum (Ca^{+2}) kanalları 29

2.4.2. Klor (Cl^{-}) kanalları 30

2.4.3. Potasyum (K^{+}) Kanalları 31

2.5. Endotel Fonksiyon Bozukluğuna Neden Olabilecek Durumlar 32

2.5.1. Ateroskleroz 32
2.5.2. Hipertansiyon 33
2.5.3. Hiperkolesterolemi 33
2.5.4. Diyabetes Mellitus 33
3. MATERYAL VE METOT 35
3.1. Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları 35
3.2. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Dozları 35
3.3. Araştırmada Kullanılan Alet ve Malzemeler 37
3.4. Rat Aort Halkasının İzole Organ Preparatı Olarak Hazırlanması 39
3.5. Deney Grupları 45
3.6. İstatiksel Analiz 49
4. BULGULAR 50
5. TARTIŞMA 127
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 142
KAYNAKLAR 144
EKLER 160
EK 1. ÖZGEÇMİŞ 160
EK-2 ETİK KURUL ONAY FORMU 161

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ' ye en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında her türlü ilgi ve desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. D. Ali ÇINAR hocama ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Emin ŞENGÜL'e çalışma arkadaşlarım Aslıhan ATASEVER'e, Tuba Nur ASLAN'a ve bu çalışmayı destekleyen Atatürk Üniversitesi **ÖYP Kurum Kordinatörlüğü** birimine teşekkür ederim. Ayrıca tüm hayatım boyunca gerek manevi gerekse maddi desteklerini eksik etmeyen sevgili babam, annem, kardeşlerim, yengelerim ve nişanlıma sonsuz teşekkür ederim.

Volkan GELEN

ÖZET

Rat Torasik Aortunun Vasomotor Aktivitesi Üzerine 4-hydroxyacetophenone'un Etkilerinin İn Vitro Araştırılması

Amaç: Halk arasında "kır nanesi" olarak da bilinen Z. clinopodioides Lam. dan vasodilatatör etkinliği olan acacetin, apigenin, chrysin, thymonin gibi flavonoidler, acetovanillone, 4-HAP gibi fenolük bileşikler ve sinnamik asit derivatı olan ethyl 4-coumarate olmak üzere yedi bileşik izole edilmiştir. Yaptığımız bu çalışma ile bir fenolik bileşik olan 4-HAP'ın izole rat torasik aortunda vazodilatatör etkinliğin mekanizmasını belirlemek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada 40 adet erkek ergin Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar, anestezi altında servikal dislokasyon metodu ile ötenazi edildiler. Göğüs boşluğu açılarak yaklaşık 1cm boyutunda torasik aort izole edildi. Aort halkalarının bir kısmının endoteline dokunulmazken bir kısmının endoteli mekaniksel olarak kaldırıldı. Hazırlanan halkalar içerisinde Krebs solüsyonu bulunan 20 ml'lik organ banyosuna yerleştirildi. Halkalara 1g gerim uygulanarak 1 saatlik inkübasyon periyoduna bırakıldı. İnkübasyon periyodu sonunda banyoya FE, KCl, nifedipine, L-NAME, 4-HAP, SQ22.536, ODQ, ACh, SKF96365, Propranolol, Atropin, TEA, Gibenclamide, 4-aminopyridine ve U73122 bir protokol çerçevesinde uygulandı.

Bulgular: L-NAME varlığında FE ile indüklenmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın vasorelaksan etkisinin önemli derecede engellendiği belirlendi. Yine 4-aminopyridine ve nifedipine varlığında FE ile indüklenmiş endotelsiz aorta halkaları üzerine 4-HAP'ın vasorelaksan etkisinin önemli ölçüde engellendiği görüldü.

Sonuç: 4-HAP'ın FE ve KCI ile oluşturulan kontraksiyonları gevşettiği bu etkinliğin endotelli dokularda L-NAME varlığında önemli ölçüde azalmasından dolayı NOS yolağından olduğu belirlendi. Endotelsiz aort halkalarında nifedipine ve 4-aminopyridine varlığında 4-HAP'ın gevşetici etkinliğinin önemli ölçüde azalmasından dolayı etkinliğin K^+ kanalı ve L-tipi Ca^{+2} kanalı yolundan olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Aort, 4-HAP, rat, fenilefrin, KCI.

ABSTRACT

In Vitro Invastigation Effects of 4-hydroxyacetophenone on Rat Torasic Aorta's Vasomotor Activity

Aim: Z. clinopodioides Lam. is also known as a ''Field Mint'' Seven compounds which have vasodilator activity have been isolated from Z. clinopodioides Lam. and two of them are phenolics compounds and these are acetovanillone, 4-HAP, four of them are flavonoids and these are acacetin, apigenin, chrysin, thymonin one derivat of cinnamic acid and ethyl 4-coumarate. In this study, it was aimed to define vasodilator activiy mechanisms of fenolic compound 4-HAP on isole rat torasic aorta.

Material and Method: In this study 40 male adult Sprague Dawley type of rat were used. Prepared rings were laid out into the 20 ml organ bath with Kreb solution. Rings were stretched by 1g and they were left to 1 hour incubation period. In the end of the incubation period, FE, KCI, nifedipine, L-NAME, 4-HAP, SQ22.536, ODQ, ACh, SKF96365, Propranolol, Atropin, TEA, Gibenclamide, 4-aminopyridine and U73122 were implemented to bath with a protocol.

Results:. Mechanisms of this relaxed effect was assigned by using antagonists. It was observed that Vasorelaksan effect of 4-HAP on endothelilal aorta straight muscle contractions which had been inductioned by FE under the existance of L-NAME was considerably inhibited.

Conclusion: It was stated that 4- HAP relaxed FE and KCI contractions and owing to this activity endothelilal tissues on L-NAME existance notably decreased because of NO networkway. It is firmly believed that as relaxed effect of 4-HAP declines remarkably under the existance of 4-aminopyridine and nifedipine on unendothelilal aorta rings, activity could be on K^+ canal and L-type Ca^{+2} chanal.

Key Words: Aorta, 4-HAP, rat, phenilephrine, KCl

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AC : Adenil siklaz

ADH : Antidiüretik hormon

ANP : Atrial natriüretik peptit

ATP : Adenozin trifosfat

BK : Bradikinin

Ca^{+2} : Kalsiyum

CaM : Kalsiyum-kalmodulin

cAMP : Siklik adenozin monofosfat

cGMP : Siklik guanozin mono fosfat

COX : Siklo oksigenaz

DAG : Diaçilgliserol

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

ET : Endotelin

EDHF : Endotel derivad hiperpolarizing faktör

eNOS : Endotel kaynaklı nitrik oksit sentetaz

FE : Fenilefrin

GABA : Gama amino butirik asit

4-HAP : 4-Hydroxyacetophenone

iNOS : İndüklenmiş nitrik oksit sentetaz

IP3 : İnozitol trifosfat

K^{+} : Potasyum

KATP : ATP' duyarlı potasyum kanalı

KCI : Potasyum klorür

LDL : Düşük dansiteli lipoprotein

L-NAME : L-Nitroarjinin metil esteraz

MHZK : Miyozin hafif zincir kinaz

nNOS : Nöronal nitrik oksit sentetaz

NO : Nitrikoksit

ODQ : 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one

PGI2 : Prostasiklin 2

PK-A : Protein kinaz –A

PK-C : Protein kinaz –C

ROCs : Reseptör aracılı kalsiyum kanalları

SOCC : Depo aracılı kalsiyum kanalları

TAT : Tamamlayıcı ve alternatif tıp

TBA : Tetra butil amonyum

TEA : Tetra elit amonyum

ROCs : Reseptör aracılı kalsiyum kanalları

VDCs : Voltaja duyarlı kalsiyum kanallar

ZDCE : Ziziphora clinopoides dichloromethane extraktı

β-ARs : β-adrenerjik reseptörler

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa No
Şekil 2.1.	Ziziphora clinopoides Lam.görünüşü……..…….....	7
Şekil2.2.	Ziziphora clinopoides Lam. dan dan izole edilmiş vasorelaksan etkili bileşikler	9
Şekil 2.3.	4-HAP'ın kimyasal yapısı…….....	10
Şekil 2.4.	Düz kas çeşitleri…….…….....	12
Şekil 2.5.	Düz kaslarda kontraksiyonun moleküler mekanizması…….....	13
Şekil 2.6.	Çizgili kasta kontraksiyonun moleküler mekanizması…….….....	14
Şekil. 2.7.	Düz kas hücresinde gevşemenin moleküler mekanizması……..….….....	15
Şekil 2.8.	Kan damarının histolojik yapısı…….….....	17
Şekil 2.9.	Aortun kısımları……..…….….....	20
Şekil 2.10.	Düz kas hücrelerindeki α_1 reseptörü ve işlevleri…….….....	21
Şekil 2.11.	Düz kas hücrelerinde Beta-reseptörü ve etki…….….....	22
Şekil 2.12.	Endotelten salınan vazodilatatör etkinliğe sahip maddeler ve damar düz kasındaki etkileri…….….....	27
Şekil 3.1.	Servikal dislakasyon ile ötenazi edilmiş rattan torasik aortun izole edilmesi…….….....	41
Şekil 3. 2.	Seroza ve bağ dokusundan arındırılmış rat torasik aortu…….….....	42
Şekil 3. 3.	İzole edilmiş torasik aortun temizlenmesi ve kesit alınması…….….....	42
Şekil 3.4.	İçerisinde krebs solüsyonu bulunan izole organ banyosuna asılmış rat torasik aort düz kas halkası…….….....	43
Şekil 3.5.	Torasik aort halkasının izolasyonu ve organ banyosuna asılmasının şematik gösterimi……..…….....	43

Şekil 4.1. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli (E (+)) aort düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 50

Şekil 4.2. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının L-NAME varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 52

Şekil 4. 3. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının indomethacin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 55

Şekil 4.4. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının propranolol varlığı ve yokluğunda etkisi……..... 58

Şekil 4.5. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının atropin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 60

Şekil 4.6. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının ODQ varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 63

Şekil 4.7. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının SQ 22.536 varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 66

Şekil 4.8. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli (E(+)) aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının etkisi 67

Şekil 4.9. 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının L-NAME varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 70

Şekil 4.10. 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının indomethacin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 73

Şekil 4.11. 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının propranolol varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 75

Şekil 4.12. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının atropin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 78

Şekil 4.13. 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının ODQ varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi…….. 81

Şekil 4.14. 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının SQ 22.536 varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 84

Şekil 4.15. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz [E (-)] aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 86

Şekil 4.16. TEA varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 88

Şekil 4.17. Glibenclamide varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 91

Şekil 4.18. 4-aminopyridine varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 94

Şekil 4.19. Nifedipine varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 97

Şekil 4.20. SKF96365 varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 99

Şekil 4.21. U73122 varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 102

Şekil 4.22. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz [E(-)] aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 104

Şekil 4.23. TEA varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..……..... 106

Şekil 4.24. Glibenclamide varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşeticietkisi……..... 109

Şekil 4.25. 4-aminopyridine varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 112

Şekil 4.26. 4-aminopyridine varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşeticietkisi……..... 114

Şekil 4.27. SKF96365 varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 117

Şekil 4.28. U73122 varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 120

Şekil 4.29. FE ile indüklenmiş in vitro rat endotelli [E(+)] aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine Ach'ın etkisi……..... 122

Şekil 4.30. FE ile indüklenmiş in vitro rat endotelsiz [E(-)] aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine Ach'ın etkisi……..... 123

Şekil 4.31. KCI ile indüklenmiş in vitro rat endotelli [E(+)] aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine Ach'ın etkisi……..... 124

Şekil 4.32. KCI ile indüklenmiş in vitro rat endotelsiz [E(-)] aort halkalarının kas kontraktilitesi üzerine Ach'ın etkisi……..... 125

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa No
Tablo 2.1.	Ziziphora clinopoides Lam.'da bulunan önemli bileşikler.....	8
Tablo 3.1.	L-NAME varlığında FE ile uyarılmış endotelli aort düz kas halkaları üzerine 4-HAP'ın gevşetici etkinliğinin araştırıldığı deneysel protokol	39
Tablo 3.2.	L-NAME varlığında KCI ile uyarılmış endotelli aort düz kas halkaları üzerine 4-HAP'ın gevşetici etkinliğinin araştırıldığı deneysel protokol…….....	40
Tablo 3.3.	Çalışmada kullanılan etken madde, agonist ve antagonistler……..	41
Tablo 3.4	Çalışmada oluşturulan deney grupları…….....	48
Tablo 4.1.	10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının L-NAME varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi …….....……..	53
Tablo 4.2.	10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının indomethacin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi…….....	55
Tablo 4.3.	10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının propranolol varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi…….....	58
Tablo 4.4.	10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının atropin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi…….....	61

Tablo 4.5. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının ODQ varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 64

Tablo 4.6. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının SQ 22.536 varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 66

Tablo 4.7. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının L-NAME varlığı ve yokluğunda gevşeticietkisi……..... 70

Tablo 4.8. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının indomethacin varlığı ve yokluğunda gevşeticietkisi……..... 73

Tablo 4.9. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının propranolol varlığı ve yokluğunda gevşeticietkisi……..... 76

Tablo 4.10. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının atropin varlığı ve yokluğunda gevşeticietkisi……..... 79

Tablo 4.11. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının ODQ varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi……..... 82

Tablo 4.12. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının SQ 22.536 varlığı ve yokluğunda gevşeticietkisi…… 84

Tablo 4.13. TEA varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi…….. 88

Tablo 4.14. Glibenclamide varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 91

Tablo 4.15. 4-aminopyridine varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 94

Tablo 4.16. Nifedipine varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 97

Tablo 4.17. SKF96365 varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……. 100

Tablo 4.18. U73122 varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 103

Tablo 4.19. TEA varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 106

Tablo 4. 20. Glibenclamide varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi…….....……..... 109

Tablo 4.21. 4-aminopyridine varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzrine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 112

Tablo 4.22. 4-aminopyridine varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 115

Tablo 4.23. SKF96365 varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 118

Tablo 4.24. U73122 varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi……..... 121

1. GİRİŞ

Canlı organizmaların fizyolojik aktivitelerinin sağlıklı bir biçimde yürütülmesi ve sürdürülmesi gerek kendi yaşamları gerekse çevre ve ekosistem açısından son derece önemlidir. Ancak canlılar yaşamları süresince çeşitli etkiler altında kalarak fizyolojik hallerinden sapmalar göstererek patolojik durumlarla karşı karşıya kalabilirler. Canlıların sağlığının bozulması ya da hastalık diye tanımladığımız bu patolojik durumlar, ilgili canlıya ait fizyolojik fonksiyonların yerine getirilememesi, buna bağlı olarak önemli iş gücü kayıpları ve verim kayıpları gibi olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Canlılarda hastalıkların iyileştirilmesi için çeşitli tedavi yöntemleri kullanılır. Bu yöntemler çoğu zaman maddi olarak oldukça büyük harcamaları gerektirmektedir. İnsanoğlu ilk çağlardan bu yana gerek kendi sağlık problemlerini gerekse beraberinde bulundurduğu, gıda olarak ya da gücünden olduğu gibi çeşitli yönlerinden yararlandığı hayvanlarının hastalıklarının iyileştirilmesi için sözünü ettiğimiz tedavi yöntemlerini geliştirmekle beraber, tedavi yöntemleri ile ilgili yeni yöntem arayışlarını da sürdürmektedir. Alternatif tıp olarak tanımlanan tedavi yöntemlerinden biyolojik temele dayalı bitkisel tedaviler günümüzde yoğun bir şekilde uygulama alanı bulmaya başlamıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır.[1] Bu nedenle alternatif tedavi alanında değerlendirilen bitkilerin yapısı, kimyasal içeriği, gerek total ekstreleri gerekse yapısında bulunan kimyasal bileşiklerin biyolojik etkinlikleri ve bu etkilerin mekanizmaları üzerine yapılan çalışmaların arttığı görülmektedir. Hatta bu tıbbı bitkilerin bileşiklerinden yeni ilaçların bulunması için konuyla ilgili dünyanın pek çok ülkesinde araştırma ve geliştirme enstitüleri gibi çeşitli merkezlerde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Günümüzde kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet gibi insan sağlığı açısından son derece önemli olan çeşitli hastalıkların iyileştirilmesinde geliştirilmiş tedavi metotlarının

yanında, yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasına yönelik olarak tıbbı bitkilerin bileşiklerinden yararlanma yolları yaygın bir şekilde araştırılmaktadır. Bu amaçla sözü edilen bitkilerin ve bileşenlerinin canlı organizma üzerinde biyolojik etkilerinin mekanizmalarının bilinmesi, tedavi amaçlı kullanımlarının uygun olup olamayacağı hakkında yol gösterici olabileceği gibi, tedavi amaçlı olarak kullanım yollarının belirlenmesi açısından da son derece önemlidir. Bu amaçlar doğrultusunda araştırılan bitkilerden biride Laminaea ailesinin bir üyesi olan Ziziphora clinopoides Lam. (Kır nanesi) dır. Kır nanesinin yapısında pulegone, sis-isopulegone, cineol, thymol, α and β pinen, piperitenone, apigenin, acecetin, 4-hydroxyacetophenone (4-HAP), 4-etilcoumarat, thymonin, cinnamic asit ve chrysin gibi bir takım bileşiklerin bulunduğu belirlenmiştir.[2-4] Bitkinin içerisinde bulunan bu bileşiklerin bir takım biyolojik etkinliklerinin olduğu bazı çalışmalarda rapor edilmiştir. Ancak söz konusu bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin doku düzeyinde, hücresel düzeyde ve moleküler düzeyde nasıl bir mekanizma ile etkili olduğu, konusunda yeteri kadar aydınlatıcı bilgiler bulunmamaktadır. Oysa bu mekanizmaların bilinmesi, ilgili bileşiğin organizma üzerinde olumlu ya da olumsuz yönlerinin anlaşılması bakımından son derece önemlidir. Örneğin; yapılan bir çalışmada Chrysin'ın (5,7-dihydroxyflavone) antioksidan, antiviral, antiallerjik, antiinflamatuar ve antidiabetojenik gibi çeşitli biyolojik etkilerinin olduğunu gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada bu bileşiklerden acacetin, apigenin, chrysin, thymonin gibi flavonoidler, acetovanillone, 4-HAP gibi fenolik bileşikler ve cinnamic asit derivatı olan ethyl 4-coumarate'ın izole edilmiş rat torasik aort düz kasında vasodilatatör etkinliklerinin olduğu belirlenmiştir.[3] Ancak bu çalışmada fizyolojik bir fonksiyon üzerine gösterilen bu etkinin nasıl ve hangi moleküler mekanizmalarla gerçekleştirildiği yeteri kadar irdelenmemiştir. Bir bileşiğin vasodilatatör etkisi, hipertansiyonlu bireylere olumlu bir katkısının olabileceğini düşündürebilir, ancak aynı bileşik normotansiyonlu ya

da hipotansiyonlu bireylerde kan basıncını olumsuz etkileyerek daha vahim sonuçların doğmasına da neden olabilir. Bu hipotezlerin doğruluğunu gösterebilmek için bu etkilerin hücresel düzeyde reseptörik mekanizmalar üzerinden ve moleküler düzeyde incelenmesinin gereği vardır. Bu nedenle tıbbi amaçlı kullanılan her bitki türünün ve bileşiklerinin antioksidan, antiniflamatuar ve hücre koruyucu gibi olumlu ya da toksik etkileri, apaptotik etkileri ve hücre hasarı gibi olumsuz biyolojik etkilerinin ve etki mekanizmalarının ayrıntılı bir şekilde ele alınarak belirlenmesi gerekmektedir. Alternatif tıpta bitkisel kökenli tedavilerde Ziziphora clinopoides Lam.'nın çeşitli bileşenlerinin etkileri bir takım çalışmalarda ele alınmış ve bu konuda yapılan çalışmalardan örnekler yukarıda ifade edilmiştir.

Bu çalışmada Ziziphora clinopoides Lam.'nın vasodilatatör etkisi ile ilgili olarak yapısında bulunan bileşiklerden biri olan 4-HAP'ın in vitro rat torasik aortu üzerinde oluşturduğu vasodilatatör etkisi ve bu etki mekanizmasının ilgili yolaklarının hücre düzeyinde belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Modern ve bilimsel tedaviler dışındaki tedavilerin birçoğu Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından tamamlayıcı ve alternatif tıp (TAT) uygulamaları olarak tanımlanmaktadır.[5, 6] Günümüzde tüm dünyada kullanılmakta olan TAT; (1) alternatif medikal sistemler (homeopati, veya geleneksel ÇinTıbbı), (2) zihin beden ilişkisine dayanarak uygulanan tedavi yöntemleri (meditasyon, dua, dans, sanat ve müzik), (3) biyolojik temele dayalı tedaviler (bitkisel tedaviler, diyetsel destekler), (4) manipulatif ve beden temeline dayalı tedaviler (şiropatik tıp, masaj) ve (5) enerji odaklı tedaviler (Kigong, Reiki, dokunma) olmak üzere 5 ana grup altında sınıflandırılmıştır.[7] Biyolojik temele dayalı tedavi yöntemlerinden olan bitkisel tedavi yöntemlerinde çeşitli bitkilerin ekstratraktı, çayı, kremi ve bu bitkide bulunan bileşikler kullanılmaktadır. Ancak bu tür tıbbi bitkilerle yapılan alternatif tedavilerde, uygulanan bitkinin ya da derivesinin biyolojik organizma üzerinde yararlı etkilerinin yanında zararlı etkilerinin de olabileceği göz ardı edilmemelidir. Söz konusu yararlı ya da zararlı etkilerin mekanizmalarının belirlenmesi bu tür tedavilerde kullanılan bitki ekstrakları ya da bileşenlerinin amacına uygun bir şekilde kullanımları açısından son derece önemlidir. Hatta bu tür bitkilere ait biyolojik etkinliklerin mekanizmalarını belirlemek, söz konusu bitkilerden yeni tıbbı tedavi yöntemlerinin keşfedilmesi ve yeni ilaçların bulunmasına olanak sağlar. Bu amaçla kullanılan bitkilerden biri de Lamiaceae ailesinin bir üyesi olan Ziziphora clinopoides Lam. dır.

2.1. Ziziphora clinopoides Lam. (Kır nanesi)

Lamiaceae ailesinde Ziziphora clinopoide Lam., Z. capitat L., Z. persica Bunge, Ziziphora tenuior L., Z. taurica Bieb. subsp. taurica ve Z. taurica Bieb. subsp. cleonioides olmak üzere altı tür bitki bulunmaktadır. Ziziphora clinopoides Lam. Farsçada ‘Kakuti’ olarak bilinirken bu bitki Türkiye’de ‘Dağ Reyhanı, ‘Filiskin otu’, ‘Nane ruhu’[8] ve ‘Kır

nanesi' olarak adlandırılır. Ziziphora clinopoides Lam. yeşil veya gri renkli 10-15 cm uzunluğunda çok yıllık aromatik bir bitki türüdür (Şekil.1). Türkiye, İran ve Azerbaycan'da yaygın olarak yetişen bu bitki, Türkiye'de özellikle Batı Anadolu, Akdeniz Bölgesi, Orta ve Doğu Anadolu'da yaygın olarak bulunmaktadır.[9] İran ve Türk halkı tarafından geleneksel olarak soğuk algınlığı, mide bağarsak rahatsızlıkları ve inflamasyonun tedavisnde oldukça yaygın kullanılmaktadır.[10] Yapılan çalışmalarda bu bitkinin yapraklarından elde edilen etanollü ektraktının agara eklendiğinde gram pozitif ve gram negatif bir çok bakteri üzerine antibakteriyel [11-13] etkinliğinin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca oksidan süpürücü etkisinden dolayı antioksidan etkinliğinin olduğu rapor edilmiştir.[13] Aspergillus niger, Trichophyton rubrum, Trichoderma reesei ve Microsporum gypseum gibi mantarlar üzerine antifungal [14] ve bir başka çalışmada farelerde asetik asit ile oluşturulmuş kolitis modelinde antiinflamatuar [15] etkinliğinin olduğu ortaya konulmuştur. Uygur ve Kazak halkı tarafından geleneksel tıpta hipertansiyon, ateş, ödem, kalp hastalıkları, uykusuzluk, trakeitis, akciğer yetmezliği ve hemoroid gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu bitkinin yapısında apigenin, acetovanillone, acecetin, 4- ethycoumarat, 4-hydroxyacetophenone, thymonin, chrysin, 7-O-rutinosidelinarin, diosmin, methyl 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoate, 7-O-methylsudachitin (4′,5-dihydroxy-3′,6.7.8-tetramethoxyflavone), kaffeik asit, luteolin,[2-4] pulegone, sis-isopulegone, cineol, thymol α ve β pinen, piperitenone, terpenloidler ve flavonoidler gibi bileşenler bulunmaktadır. [2, 11, 12] Bu bitkide bulunan önemli bileşikler Tablo1. de gösterilmiştir. Bitkiden izole edilmiş acacetin'in hücre kültürü ortamında in vitro olarak yapılmış neonatal rat hypoxia/reoxygenation hasar modelinde kardiyomisyositleri koruyucu etkinliğinin olduğu belirlenmiştir.[16] Bu bitkinin yapısında bulunan ve bir flavanoid olan apigeninin ise hipotensif, antiinflamatuar,[17, 18] antispasmodik,[19] antikarsinojenik, [20] ve antioksidan [21] gibi etkilerinin olduğu

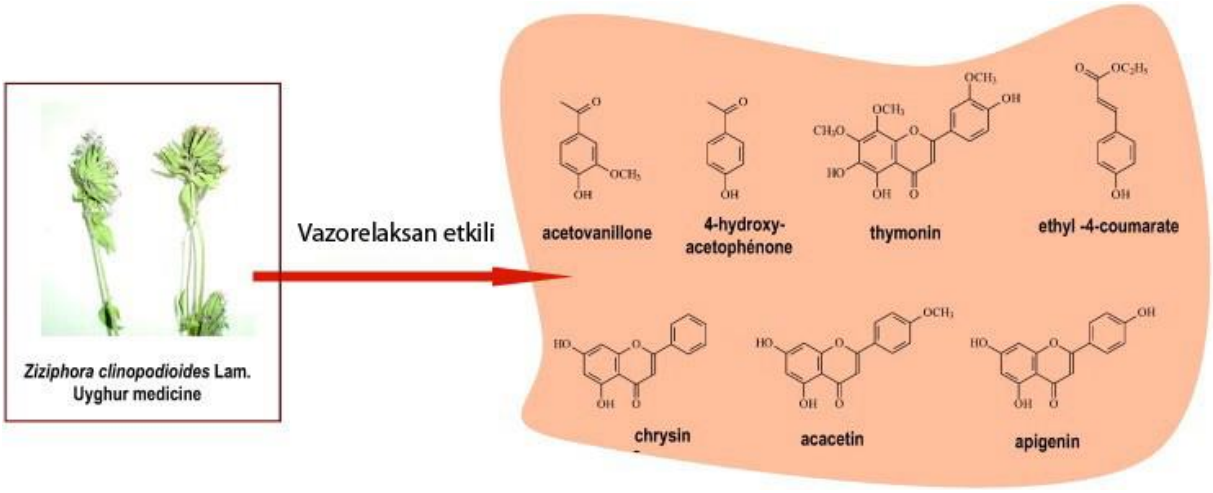
belirlenmiştir. Yine bir başka çalışmada izole edilmiş rat torasik aortunda apigeninin vazorelaksan etkili olduğu belirlenmiştir.[22] Ayrıca bu bitkinin dichloromethane ekstraktının (ZDCE) vazodilatatör etkili olduğu belirlenmiştir.[23] Ziziphora clinopoides Lam.'ın yapısında bulunan acacetin, apigenin, chrysin, thymonin gibi flavonoidler, acetovanillone, 4-HAP gibi fenolik bileşikler ve cinnamic asit derivatı olan ethyl 4-coumarate denen maddelerin vazodilatator etkinliğinin olduğu rapor edilmiştir[3] (Şekil 2.2). Vasorelaksan etkili olan bu bileşiklerden apigeninin yapılan bir çalışmada izole edilmiş rat torasik aortunda vasorelaksan etkisinin hangi mekanizma veya mekanizmalardan olduğunu belirlemek amacı ile çeşitli antagonistler kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen bulgulara göre endotele bağımlı olarak NO/cGMP üzerinden, endotelden bağımsız olarak voltaja duyarlı ve reseptör aracılı Ca^{+2} kanalı inhibisyonu ile etkili olduğu belirlenmiştir.[22] Vasorelaksan etkinliği olan bileşiklerden biri olan chrysin'in ise yapılan bir çalışmada izole rat aortunda NO seviyesini artırarak vasorelaksiyona neden olduğu bildirilmiştir.[24] Yine bu bileşiklerden acetovanillone'nin vasorelaksan etki mekanizmasını belirlemek amacı ile yapılan bir çalışma da izole rat torasik aortunda Ca^{+2} ve NOS aracılı vasorelaksiyona neden olduğu belirlenmiştir.[25] Ancak 4-HAP'ın vasorelaksan etkinliğin mekanizmasını açıklayan yeterli çalışmaya rastlanamamıştır. Planladığımız çalışmada 4- HAP'ın vasorelaksan etkinliğin mevcut mekanizmaları ve bu mekanizmaların işleyişi ile ilgili sürecin nasıl geliştiğini belirlemek düşüncesi hedef edinilmiştir.



Şekil 2.1. Ziziphora clinopoides Lam. görünüşü.

Tablo 2.1. Ziziphora clinopoides Lam.'da bulunan önemli bileşikler.

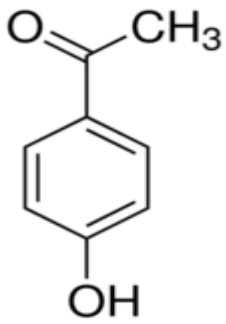
1.	n-Pentane	**26.**	p-Menth-3-en-8-ol	**51.**	Bicyclogermacrene
2.	n-Hexane	**27.**	Menthone	**52.**	γ-Cadinene
3.	3-Methylbutanal	**28.**	iso-Menthone	**53.**	δ-Cadinene
4.	2-Ethylfuran	**29.**	Borneol	**54.**	Spathulenol
5.	2E-Hexenal	**30.**	Menthol	**55.**	Globulol
6.	3Z-Hexenol	**31.**	Terpinen-4-ol	**56.**	Viridiflorol
7.	Tricyclene	**32.**	cis-Piperitol	**57.**	n-Hexadecane
8.	α-Thujene	**33.**	Pulegone	**58.**	Isospathulenol
9.	α-Pinene	**34.**	Piperitone	**59.**	epi-α-Muurolol
10.	Camphene	**35.**	Geraniol	**60.**	α-Cadinol
11.	Sabinene	**36.**	Thymol	**61.**	n-Tetradecanol
12.	β-Pinene	**37.**	Eugenol	**62.**	n-Hetadecane
13.	Dehydro-1,8-cineole	**38.**	α-Copaene	**63.**	n-Octadecane
14.	Myrcene	**39.**	(E)-β-Damascenone	**64.**	Methylocatdecane
15.	α-Phellandrene	**40.**	β-Bourbonene	**65.**	6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone
16.	α-Terpinene	**41.**	β-Elemene	**66.**	(2E,6E)-Farnesyl acetate
17.	p-Cymene	**42.**	Z-Jasmone	**67.**	n-Nonadecane
18.	1,8-Cineole	**43.**	α-Gurjunene	**68.**	Phytol
19.	γ-Terpinene	**44.**	β-Ylangene	**69.**	n-Eicosane
20.	cis-Sbinene hydrate	**45.**	β-Copaene	**70.**	n-Heneicosane
21.	Terpinolene	**46.**	Aromadendrene	**71.**	1-Docosanol
22.	Linalool	**47.**	(E)-β-Farnesene	**72.**	Apigenin
23.	trans-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	**48.**	Alloaromadendrene	**73.**	4-hydroxyacetophenone
24.	I-Terpineol	**49.**	9-epi-(E)-Caryophyllene	**74.**	Acacetin
25.	Camphor	**50.**	Germacrene D	**75.**	Chyrsin



Şekil 2.2. Ziziphora clinopoides Lam. dan dan izole edilmiş vasorelaksan etkili bileşikler.[3]

2.1.1. 4-hydroxyacetophenone (4-HAP)

Kır nanesinin önemli bileşiklerinden biri olan 4-HAP; 4'-Hydroxyacetophenone, 1-(4-Hydroxyphenyl)ethanone, p-hydroxyacetophenone ve 4-acetylphenol olarak da bilinmektedir. Kimayasal yapısı Şekil 2.3'te gösterildiği gibidir. Bu bileşiğin, Kır nanesinin yanı sıra Rhodiola crenulata,[26] Anemarrhena asphodeloides,[27] Carthamus tinctorius,[28] Cynanchum bungei,[29] Ficus bengalensis,[30] Fabiana imbricata,[31] Tagetes mendocina,[32] Saussurea laniceps [33] ve Fagopyrum esculentum Moench [34] gibi birçok bitkinin yapısında da bulunmaktadır. 4-HAP ile yapılan bir çalışmada ratlarda karaciğeri uyararak safra sekresyonunu artırıcı etkinliğinin olduğu rapor edilmiştir.[35] Yine bir başka çalışmada 4-HAP'ın izole edilmiş rat torasik aortunda FE ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonlarını gevşettiği belirlenmiştir.[3] Ancak bu çalışmada vasorelaksan etkili olan bu maddenin etki mekanizması üzerinde durulmamıştır.



Şekil 2.3. 4-HAP'ın kimyasal yapısı.[26]

2.2. Kas

Kas dokusunun temel fonksiyonu kasılma olup vücutta bulundukları yere ve üslendikleri görevlere göre, fizyolojik ve morfolojik olarak üç çeşit kas bulunmaktadır. Bunlar iskelet kası (çizgili kas), kalp kası ve düz kastır. Çizgili kasta ve kalp kasında mevcut olan aktin ve miyozin flametleri düzenli bir şekilde yerleşmiş ve transversal çizgilenme göstermektedirler. Çizgili kas istekle yapılan atkiviteleri gerçekleştirmektedir ve motor sinirle aktiviteye sevk edilmektedirler. Kalp kası otonom sinirlerle kontrol edilip, enine çizgilenme göstermekte ve istem dışı çalışmaktadır. Düz kasta aktin ve miyozin flamenti düzenli yerleşmediği için transversal çizgilenme yoktur istem dışı aktiviteye sevk edilirler.

2.2.1. Düz kasların özellikleri

Vücutta otonomik olarak çalışan yapılarda motorik ve mekanik işlevler düz kaslar tarafından yerine getirilmektedir. Düz kasların fizyolojik özellikleri, mekanik işlevleri üstlenmiş olan çizgili kas ve kalp kasındakilere bir çok yönden benzemektedir. Ancak düz kaslarla diğer kaslar arasında morfolojik özellikler ve hücre içi düzenleme bakımından önemli farklılıklar bulunmaktadır. Düz kas hücresi genel olarak çizgili kas hücresine oranla daha ince olup, düz kas hücresinin çapı 2-5µm iken, iskelet kasınınki ortalama bunun 20 katı kadardır. Düz kas hücresinin boyu 20-500 µm aralığında iken çizgili kas hücreleri bundan birkaç bin kez daha uzundur. Düz kas telleri mekik şeklinde

olup bulundukları organa göre değişmektedir. En kısa olan kas telleri küçük boy damarlarda bulunan kas teli olup, en uzun düz kas telleri ise uterus duvarında bulunmaktadır. Düz kas hücrelerinde çekirdek tek ve uzun-oval şekilde olup hücrenin ortasında bulunmaktadır. Düz kas tellerinde kasılmadan sorumlu olan aktin ve miyozin falmentlerinin olduğu ancak iskelet kasındaki gibi düzenli olarak yerleşmedikleri belirlenmiştir. Düz kaslar mekanik ve elektrofizyolojik özelliklerine göre iki guruba ayrılmışlardır (Şekil 4.2a).

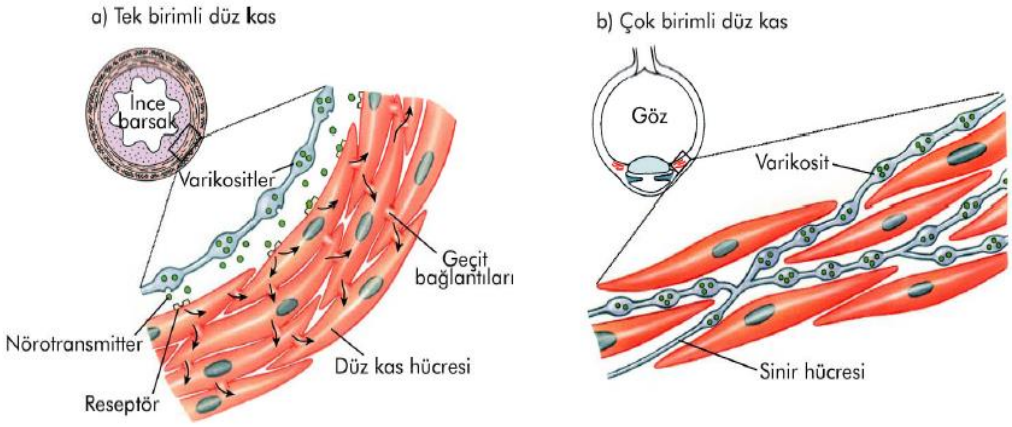
2.2.1.1. Tek birimli düz kaslar

Bu kaslara iç organ (visceral) düz kasları da denmektedir. Bu tip düz kaslarda kas hücreleri işlevsel bir şebeke (sinsityum) oluşturmaktadırlar. Yüzlerce veya binlerce hücreden oluşan şebeke içindeki düz kas hücreleri arasında sıkı bağlantı bölgeleri denilen temas yerleri bulunmaktadır. Bu sıkı bağlantılar aracılığıyla iyonlar ve metabolitler bir kas hücresinden diğerine geçebilmektedir. Aksiyon potansiyelinin de bir taraftaki hücre zarından diğer taraftaki hücre zarına sıkı bağlantı bölgesinden geçebildiği bildirilmektedir. Ayrıca şebeke içindeki bazı hücrelerin uyarı doğurucu özellikte (pacemaker) oldukları bildirilmektedir. Burada başlayan ve kendiliğinden oluşan depolarizasyon dalgası genel olarak yavaş yavaş ve bütün şebekeye yayılmakta ve peristaltik kasılmaya neden olabilmektedir. Tek birimli düz kaslara gastrointestinal, üreter, uterus ve safra kanalı düz kasları örnek verilebilir. İstek dışı çalışan bu düz kaslar, boşluklu organlardan meydana gelen dolaşım, solunum, sindirim boşaltım ve üreme sistemlerinin duvarında bir yada birkaç katman halinde yer almaktadırlar.

2.2.1.2. Çok birimli düz kaslar

Bu tip düz kaslar bağımsımsız düz kas hücrelerinden oluşmaktadırlar (Şekil 2.4b). Hücreler arasında sıkı bağlantı bölgeleri bulunmayıp sempatik veya parasempatik

sinirlerle innerve edilerek kontraksiyona sevk edilirler. Bu guruptaki kaslara gözdeki silier ve iristeki düz kaslar örnek olarak verilebilir.

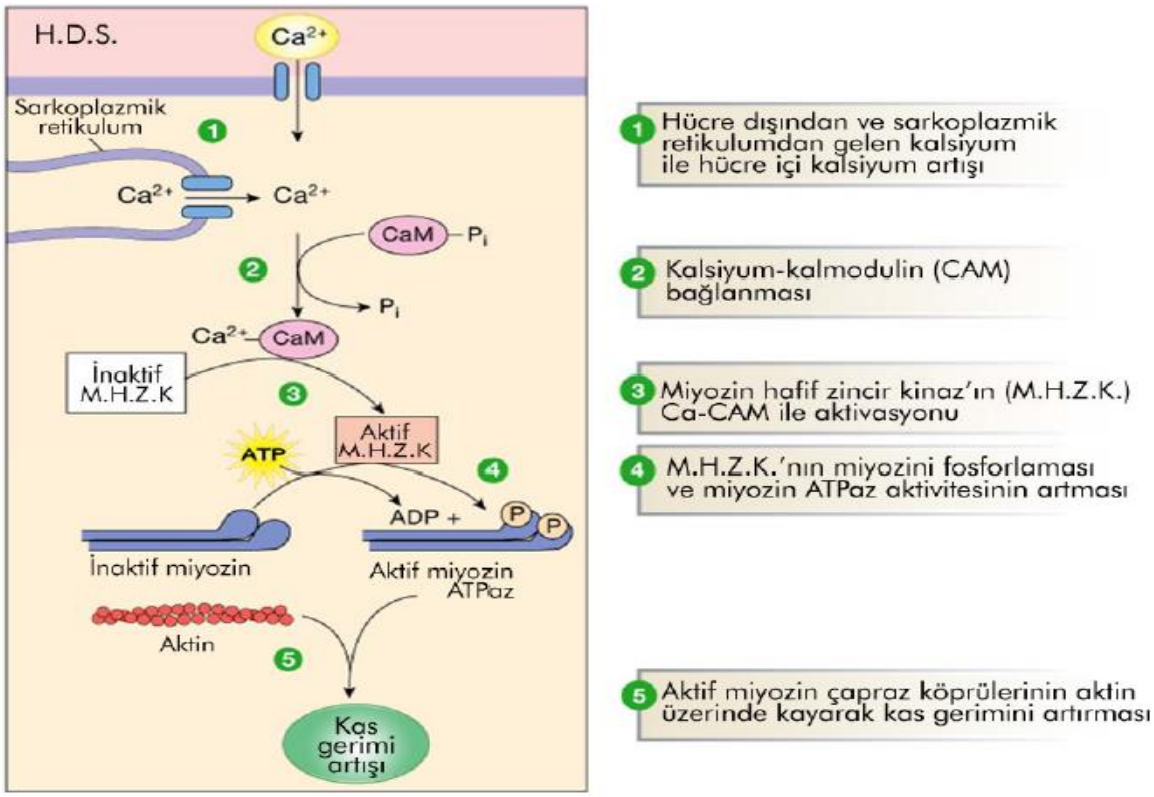


Şekil 2.4. Düz kas çeşitleri.[36]

2.2.2. Düz Kas Kontraktilitesinin Moleküler Mekanizmaları

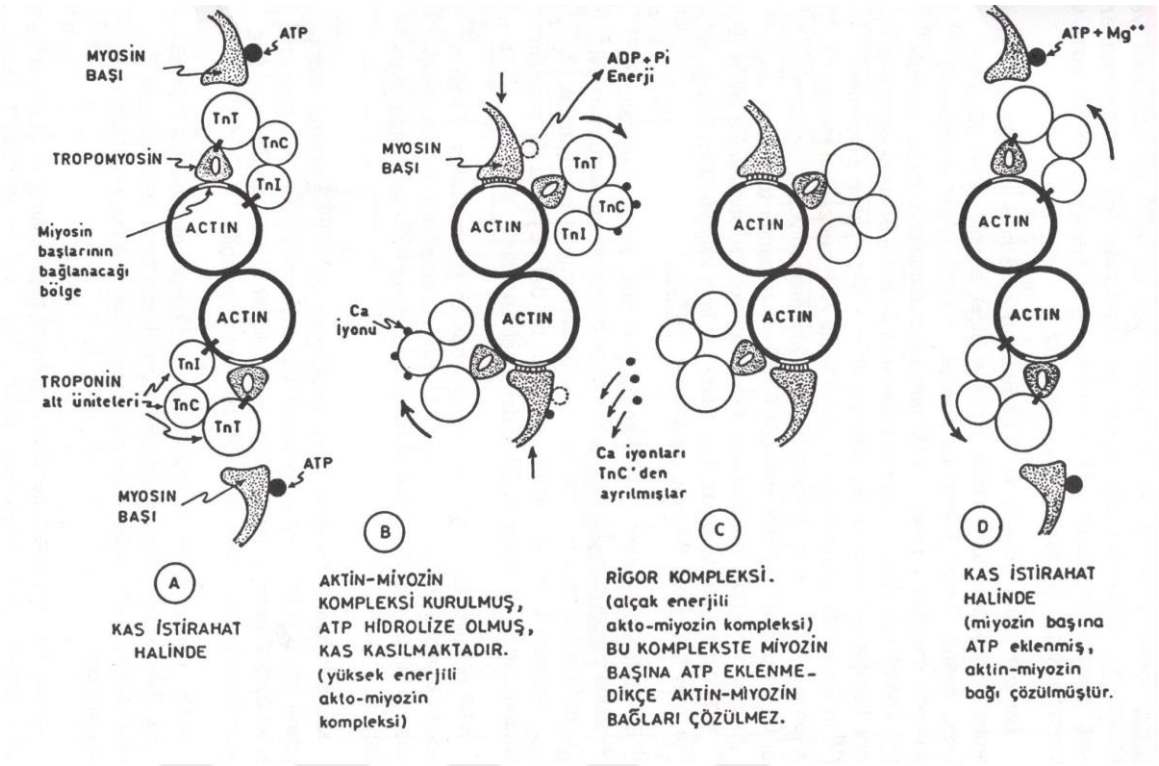
Düz kas hücrelerinin kasılma ve gevşemeleri nöronal ve hümoral yolla kontrol edilir. Aktin ve miyozin filamentleri düzenli şekilde yerleşmemiştir. Bu kas hücreleri sıkı bağlantı bölgeleri sayesinde fonksiyonel birlik oluştururlar. İyonlar veya elektrik akımı bir hücreden diğerine kolaylıkla geçebilir. Bu kaslar hormonlara ve mekanik gerilmelere cevap verirler.[37] Düz kaslarda kasılma, aktin ve miyozin etkileşmesi ile olur ve uyarılma ile kasılma arasındaki bağlantı diğer kas tiplerinde olduğu gibi iyonlar tarafından gerçekleştirilir. Ancak düz kaslarda troponin molekülü bulunmaz bunun yerine kalmodulin adı verilen bir protein molekülü bağlayıcı olarak görev yapar.[38] Birçok düz kas kasılması hücre içi kalsiyum iyonlarının artışı ile sağlanır. Bu artış mekanik, elektriksel ve kimyasal uyarım ile gerçekleşir.[38] Düz kas hücre membranının depolarizasyonu ile stoplazmada Ca^{+2} konsantrasyonu artışı sonucu; düz kas kasılmasında önemli role sahip bir protein olan kalmodulin ile Ca^{+2} sitozolde bağlanarak bir kompleks oluşturur. Bu kompleks ile inaktif olan miyozin hafif zincir kinaz aktif hale

gelir ve miyozin kinaz, miyozin çapraz köprülerini ATP hidrolizi ile fosforile eder. Fosforile edilen çapraz köprüler aktin filamentine bağlanır.[38] Çapraz köprü oluşumları kaslarda gerilim ve kısalma meydana getirir. [39, 40] Sonuçta miyozin hafif zincirin fosforilasyonu ile düz kasta kontraksiyon gerçekleşir[41](Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Düz kaslarda kontraksiyonun moleküler mekanizması.[42]

Çizgili kaslarda ise Ca^{+2} aktin üzerinde bulunan troponine bağlanarak troponini uzaklaştırır ve aktin-miyozin etkileşmesine olanak vererek kontraksiyonu aktive eder. Damar düz kasında kasılma membranda aksiyon potansiyeli oluşmadan da gerçekleşebilir [41] (Şekil 2.6).



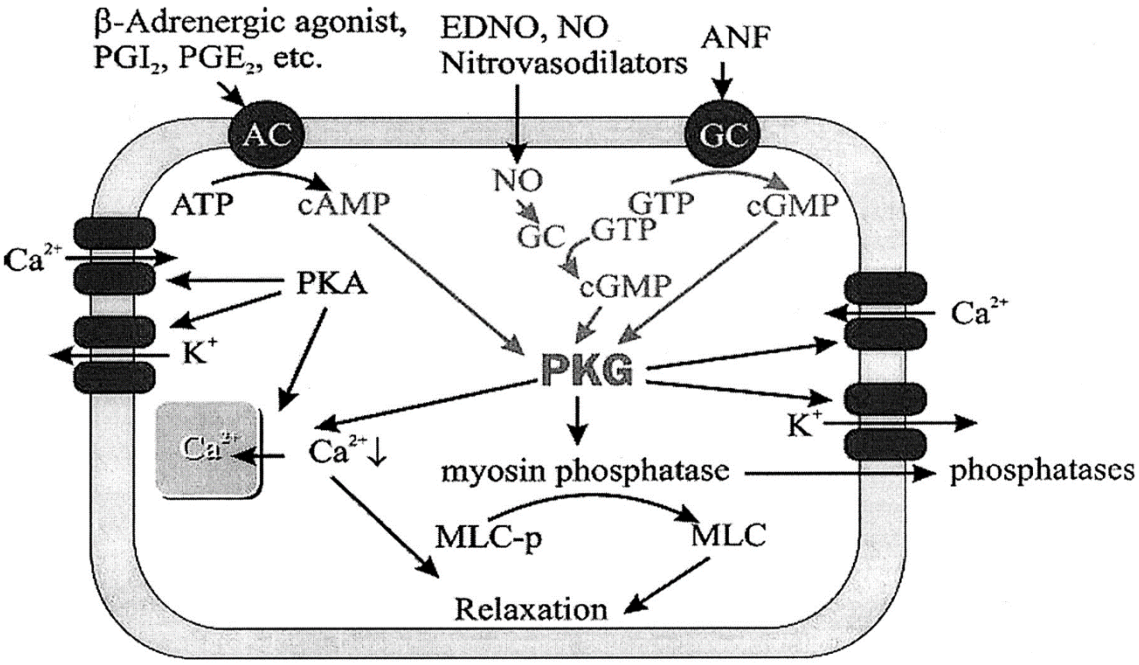
Şekil 2.6. Çizgili kasta kontraksiyonun moleküler mekanizması.[43]

2.2.3. Düz Kas Gevşemesinin Moleküler Mekanizmaları

Düz kas hücresinde meydana gelen gevşeme olayı hücrede çeşitli sinyal yolları ile miyozin fosfataz akitivitesinin artırılması, hücre içi kalsiyum seviyesinin azaltılması, düz kas hücresinde hiperpolarizasyonu oluşması ile gerçekleşmektedir. Bu olaylar edotelden salınan bir takım maddelerin (NO ve PGI2) etkinliği ve düz kas hücre yüzeyindeki çeşitli reseptörlerin (β-adrenerjik ve muskarinik) uyarılması ile gerçekleşmektedir. NO ve PGI2 endotelden salındıktan sonra düz kas hücresinde sırasıyla guanil siklaz ve adenil siklaz enzimini etkin hale geçiriri etkin hale geçirir bu enzimler protein kinaz G ve protein kinaz A'yı katalizler. Protein kinaz G hücre membranındaki L- tipi Ca kanallarını kapatarak, hücre içi depolara Ca^{+2} pomplanmasını sağlayarak Ca^{+2} seviyesini azaltır. K iyonlarının hücre dışına pompalanmasını uyarır. Ayrıca miyozin fosfataz enziminin entinliğini artırarak gevşemeye neden olur. Protein kinaz A ise hücre membranındaki L- tipi Ca^{+2}

kanallarını kapatarak, hücre içi depolara Ca^{+2} pompalanmasını sağlayarak Ca^{+2} seviyesini azaltır.

K^+ iyonlarının hücre dışına pompalanmasını uyararak düz kas hücresinde gevşeme yanıtını meydana getirir (Şekil 2.7).



Şekil. 2.7. Düz kas hücresinde gevşemenin moleküler mekanizması.[44]

2.3. Dolaşım sistemi

Kanın kalp ve damarlardan oluşan kapalı sistem içerisinde yaşam boyu durmadan hareketine dolaşım adı verilmektedir. Dolaşım sistemi vücudun temel ihtiyaçları olan besin, su, O_2 ve hormonların taşınımı, bunun yanı sıra CO_2 ve diğer metabolik atıkların vücuttan uzaklaştırılması için böbrek, deri ve akciğerlere taşınmasını sağlayan kalp ve kan damarlarından oluşan organize bir sistemdir.

2.3.1. Kan damarları

Kan damarları dolaşım sisteminin organlarından olup görevi, kanı vücudun farklı bölümlerine taşımak ve periferdeki kanı kalbe getirmektir. Kan damarları belirgin olarak atardamarlar (arterler), kılcal damarlar (kapillalara) ve toplardamarlar (venalar)

olarak üç kısımdan oluşurlar. Atardamarlar kanı kalpten alıp vücudun farklı bölümlerine taşırken, toplardamarlar vücudun farklı bölümlerinden kanı kalbe taşırlar. Bununla birlikte iki istisna mevcuttur: pulmoner arter kirli kan, pulmoner vena ise temiz kan taşır. Vücuttaki en büyük damar kanın tüm vücuda taşınmasında kalpten çıkışı sağlayan aort atardamarıdır.

2.3.2. Kan damarlarının embriyonel gelişimi

Kan damarlarının oluşumu embriyonel gelişimin 3. haftasının başında vitellüs kesesi ve koryonu saran embriyonik mezodermde başlar. Damar oluşumunun belirtisi 17. günde vitellüs kesesinin ekstraembriyonik splanknoplörik mezoderminde, endoderm germ yaprağının gelişmesinden sonra belirgin hale gelir. Mezenşim kökenli anjioblastların birleşmesi sonucu kan adacıkları oluşur. Kan adacıklarındaki intersellüler alanlar birleşerek bir lümen oluştururlar. Adacıkların çevresinde bulunan anjioblastlar endotel hücrelerine, adacıkların ortasındaki hücreler ise hemositoblastları oluştururlar.[45] Bu yapılar daha sonra birleşerek bir damar ağı oluştururlar. 3. hafta sonunda vitellus kesesi, bağlantı sapı ve koryon villuslarında damarlaşma olur. Bunlar daha sonra tomurcuklanarak yeni damarları oluştururlar. 5. haftada kalbin bulbus duvarındaki mezenşim hücreleri çoğalmaya başlar. Bulbus ve trunkus kabartıları kaynaşarak aortiko pulmoner septum meydana gelir. Aortiko pulmoner septum tarafından bulbus aorta ve a. pulmonalis olarak iki bölüme ayrılmış olur. Aorta sol kalbe, a. pulmonalis sağ kalbe açılır.[46]

2.3.3. Kan damarlarının genel yapısı

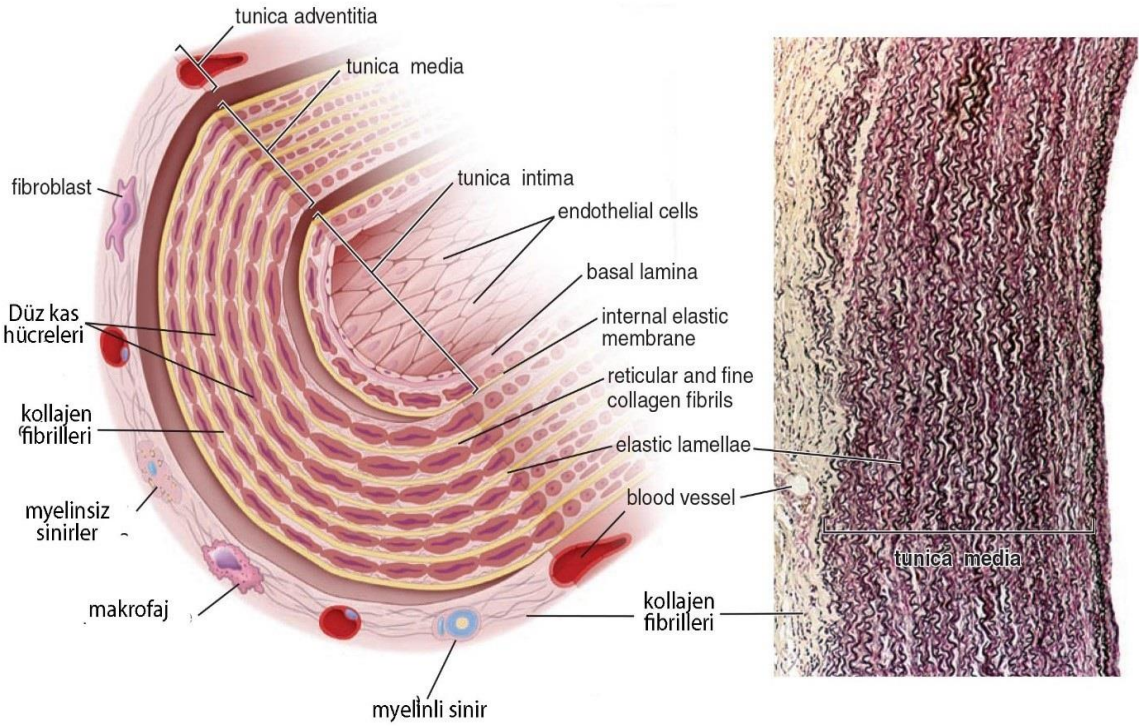
Kan damarlarının duvarında üç katman bulunmaktadır. Bunlar sırasıyla içten dışa doğru tunika intima, tunika media ve tunika adventisyadır (Şekil 2.8).

Tunika intima: En içteki katman olup endotel, bazal lamina ve subendotelyal tabakalardan oluşur. Subendotelyal tabakada küçük arteriyoller bulunmamaktadır. Bu

yapı düz kas hücresi ihtiva eder ve gevşek bağ dokusu yapısındadır. Endotel tabakası ise en içte bulunan katman olup buradan bir takım faktörler salınmaktadır bunlar NO, prostasiklin ve endotelin gibi vazoaktif,[47, 48] adezyon molekülleri ve E-selektin gibi inflamsyonu düzenleyici [49] ve doku faktörü inhibitörü gibi antikoagulan faktörlerdir.

Tunika media: Ortada bulunan düz kas hücrelerinin oluşturduğu kontraktil tabakadır. Vasküler tonusun düzenlenmesinde [50] görevi olan bu tabakanın kas hücrelerinin arasında elastik, retiküler lifler ve proteoglikanlar bulunmaktadır.[51, 52]

Tunika adventisya: Bağ dokusundan oluşmuş en dışta bulunan tabakadır. Yapısında tip 1 kollajen ve elastik lifler vardır. Media ile diğer iki tabaka arasında elastik liflerden oluşan elastik membranlar bulunur.[53] Membrana elastika interna, intima ile media tabakaları arasında bulunan laminadır. Membrana elastika eksterna daha büyük arterlerde media ile adventisya tabakaları arasında bulunan laminadır ve bu arterlerde perivaskuler sinirlerde bulundurur. [54]



Şekil 2.8. Kan damarının histolojik yapısı

2.3.4. Arterler

Kanı kalpten perifere taşıyan damarlar atar damar olarak tanımlanmaktadırlar. Kılcal damarlara göre oldukça büyük olan bu damarların media tabakası venlere kıyasla daha kalındır. Yapılarında bulunan lif çeşidine göre iki guruba ayrılırlar.

Elastik Arter: Arterlerin en büyükleridir. Kalpten müsküler arterlere kan taşıdığı için iletici arterler olarak da isimlendirilirler. Yapısında bol miktarda elastik lif bulunur. Bu lifler esneklik sağlayarak arterlerin gerilmesini ve aynı zamanda sistol ve diyastol sırasında kan basıncının devamlılığını sağlar.

Müsküler Arter: Elastik arterler dışındaki arterlerin hepsi bu grupta bulunmaktadır. Yapısının büyük çoğunluğunu düz kaslar oluşturmaktadır.

Arteriyoller: Çapı 100 mikrometreden küçük arterlerin hepsine arteriyol denilmektedir. Sonlandığı noktada metarteriyol ismini alır. Kanın kapillerlere aktarıldığı bölüm olup, termoregülasyon ve kan basıncının düzenlenmesinde fonksiyonları bulunmaktadır.

Kapillerler: 8-10 mikrometre çapında en küçük damarlardır. Perisitler tarafından kuşatılmış endotel hücreleri ve üzerine oturduğu bazal laminadan oluşmuşlardır. Kan akımı ve dokular arasında madde alışverişini sağlarlar.[55]

2.3.4.1. Elastik arterler

Aorta ve a. subklavia, a. pulmonalis, a. karotis kommunis gibi aortun büyük dalları elestik arterler grubuna girer. Bu damarların çapı 7 mm'den fazladır.

a. Aort

Sol ventrikülden çıkan aort vücutta bulunan en büyük atar damar olup, elastik arterler sınıfına girmektedir.

1. Aortun histolojik yapısı

Duvarındaki düz kas hücreleri kollajen I, II ve IV ile komşu elastik lamelle bağlantı kurar. Elastik lamellerle döşeli olduğu için ayrı bir eksternal elastik lameli bulunmamaktadır. Kalpten gelen kanın basıncı çok yüksektir. Arterlerin sistol sırasında elastik laminaları genişler ve böylece kan basıncını düşürürler. Diyastol sırasında da geri gelerek arteriyel basıncın ve kan akımının periferde devamı sağlayıcı görevleri vardır.

2. Aort'un Anatomik Yapısı

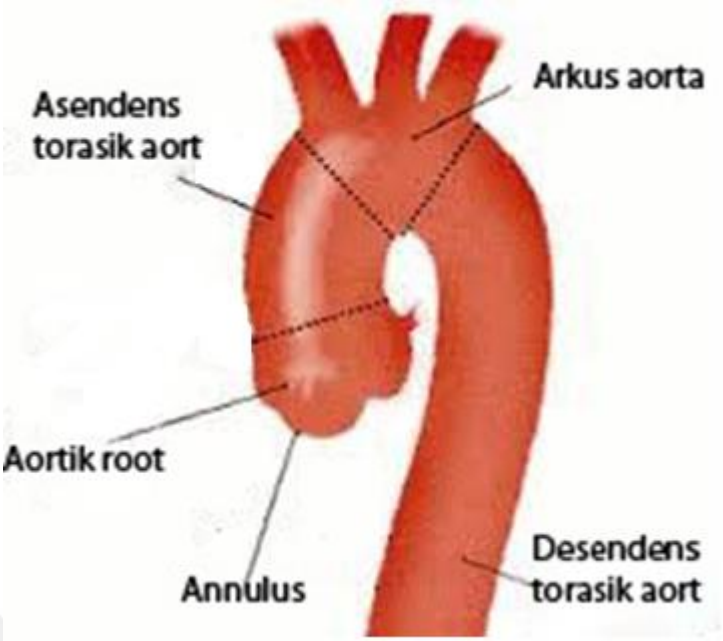
Aort ve trunkus pulmonalis, kalpten çıkan 2 büyük damardır. Trunkus pulmonalis akciğerlere venöz kanı götürür, aorta ise besin ve oksijenden zengin olan kanı vücuda dağıtır. Aort vücudun en büyük atardamarı olup, sol ventrikülün conus arteriosus denen kısmından çıkar. Pars ascendens aorta, arkus aorta ve pars descendens aorta diye üç kısımdan oluşmaktadır[56] (Şekil 2.9). Şekil Pars deskendens aorta göğüs ve karın boşluğunda farklı isimler alır. Göğüs boşluğunda pars torasik aort ve karın boşluğunda ise pars abdominalis aort olarak isimlendirilir. [57]

Pars torasik aort

Aort deskendes'in ilk parçası pars torasik aorta olarak isimlendirilir. Aortik arktan diyaframa kadar uzanan kısmı olup, ilk olarak vertebral sütunun hafifçe solunda uzanır. Diyaframa doğru orta hatta seyreder. [58]

Pars abdominal aort

Aortun diyaframı deldiği noktadan başlayarak ve sağ ve sol kommon iliak arterlere bölündüğü noktada biter. Vertebral sütun orta hattı boyunca, vena kava inferiorun solunda ve sol renal veni çapraz geçerek seyreder. [59]



Şekil 2.9. Aortun kısımları.[60]

2.3.5. Damar Tonusun Düzenlenmesinde Etkili Faktörler

Damar sistemin temel görevi dokuların yeterince kanlanmasını sağlamak ve her kalp atımı sırasında kan basıncında ve akımında oluşabilecek değişiklikleri düzenlemektir. Dokularda kapiller damarlar düzeyinde kan akımı arteriol ve postkapiller venül tonusundaki değişimlerle sabit tutulmaktadır. Akımın bu şekilde düzenlenmesi vasküler yatağın rezistansının değiştirilebilmesine bağlıdır.[61] Damar tonusunun düzenlenmesinde başlıca sinirsel, humoral ve endotel kaynaklı faktörlerin etkinliği vardır.

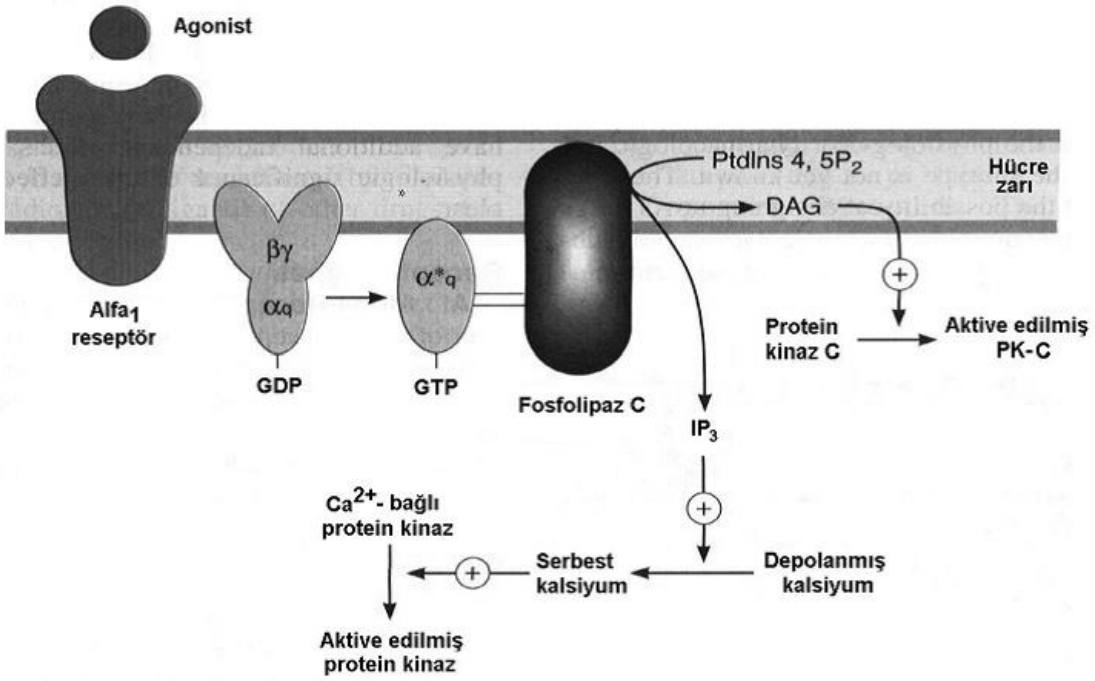
2.3.5.1. Sinirsel kontrol

a. Alfa-adrenerjik reseptörlerin damar tonusuna etkisi

Damar düz kasında bulunan α_2-adrenoreseptörleri ve α_{1A} reseptörleri hücre zarında reseptörle akitive edilen Ca^{+2} kanalları ile bağlanmış durumdadır. α_1 reseptörü fenilefrin, metaraminol ve midodrine gibi aganositlerle uyarılırken, α_2 reseptörleri tizanidine ve guanabenz gibi çeşitli agonistleri vardır. Bu reseptörlerin uyarılması sonucu

hücre içine Ca^{+2} girişi artar ve içeride artan Ca^{+2} iyonu kalmodulini aktive ederek miyozin hafif zincir kinaz'ın aktivasyonunu sağlar bu durum kasılmaya neden olur. α_2 ve α_{1A} türü reseptörlerin aktivasyonu sonucu damar düz kaslarının kasılmasında bu mekanizma rol oynamaktadır.

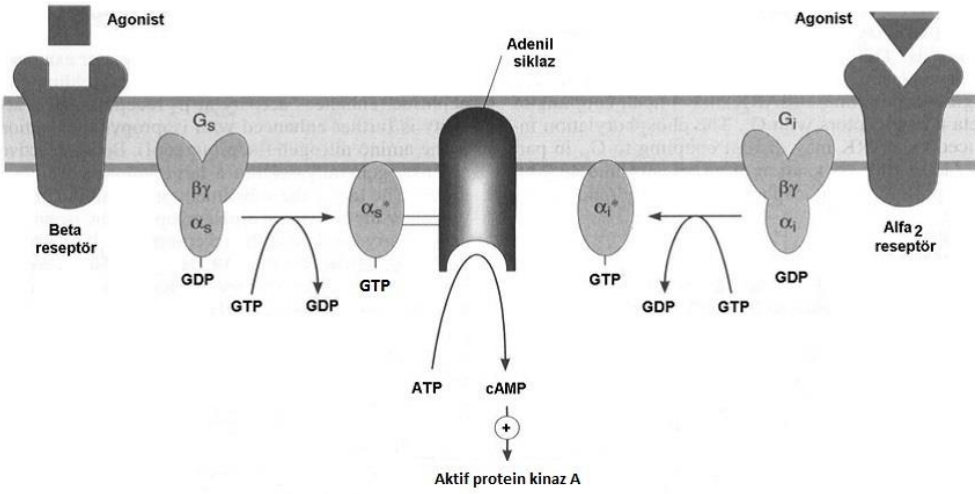
Bir başka adenoreseptörü türü olan $\alpha_{1ß}$ ise effektör hücre zarında protein G aracılığıyla fosfolipaz C enzimi ile bağlantı kurmuştur. Bu reseptörün uyarılması ile hücre zarında fosfoinozitolun hidrolizi artar ve sonuçta inozitol trifosfat (IP_3) ve diaçilgliserol (DAG) adı verilen ikincil haberciler meydana gelir.[62, 63] Bu ikincil habercilerden IP_3 endoplazmik retikulumdan Ca^{+2} salınmasını arttırırken, DAG protein kinaz C'yi uyararak etkinlik göstermektedir[64] (Şekil2.10).



Şekil 2.10. Düz kas hücrelerindeki α_1 reseptörü ve işlevleri.[63]

b. Beta adrenerjik reseptörlerin damar tonusuna etkisi

Bu reseptörlerin β1, β2 ve β3 diye isimlendirilen üç tipi vardır. β1 reseptörü özellikle kalp kası hücrelerinde bulunur ve kasılmayı indükler. β2 reseptörleri akciğer, gastrointestinal kanal, uterus ve kan damarlarında bulunur ve bu reseptör uyarılınca buradaki düz kaslarda gevşemeye neden olur. β3 reseptörleri ise yağ dokuda bulunup uyarıldıkları zaman lipoliz başlar. Bu reseptörlerin hücre zarında adanil siklaz ile kenetlenmiş olduğu belirlenmiştir. Beta-adrenerjik reseptörler hücre zarında G_S proteini ile kombine durumdadır. Bu reseptörün uyarılması ile agonist-bağlama yerinden GDP ayrılır ve GTP bağlanır. GTP'nin G_S'ye bağlanması G_S'nin aktivitesinden sorumlu α-alt-biriminin beta/gama alt birim kompleksinden ayırılmasına neden olur. Böylece G_Sα-GTP 'kompleksinin aktif hale gelmesi sağlanır. Aktif G_Sα-GTP kompleksi adenilil siklazı etkinleştirerek ATP'nin cAMP'ye dönüşümünü sağlar. Bu aşamadan sonra cAMP sitoplazmadaki protein kinaz A enzimini aktive eder. Aktif hale geçen protein kinaz A'da damar düz kas hücrelerinde Ca^{+2} iyonuna duyarlı K^+ kapılarının açılmasını sağlayarak gevşemeye neden olur (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Düz kas hücrelerinde Beta-reseptörü ve etkisi.[63]

c. Muskarinik reseptörlerin damar tonusuna etkisi

Düz kas hücre duvarında M_1, M_2, M_3, M_4 ve M_5 olmak üzere beş adet muskarinik reseptör bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda damar yatağında bu muskarinik reseptör tiplerinden M_1, M_3 ve M_5 olduğunu belirlenmiştir.[65, 66] Bu reseptör tiplerinden M_3 reseptörleri asetilkolin (ACh) ile uyarıldığında endotel kaynaklı gevşeme yanıtı oluşturduğu çeşitli çalışmalarla rapor edilmiştir.[19, 67] Reseptörün uyarılması ile endotel hücre içerisinde Ca^{+2} iyonu artışına bağlı olarak NO salınımını uyarılır. Salınan NO kas hücresi içerisinde protein kinaz G'yi aktive ederek damarda vazodilatasyona neden olur. NO'in vazodilatatör etkinliğinin mekanizması ilerki bölümlerde açıklanacaktır.

2.3.5.2. Humoral faktörler

Damar tonusunun düzenlemnmesinde etkili olan humoral faktörler arasında histamin, serotonin, atrial natriüretik peptit (ANP), anjiotensin II ve vasopressin (ADH) sayılabilir. Bunların dışında vasküler tonusun düzenlenmesinde oldukça etkin iki önemli faktör vardır. Bunlar katekolaminler (adrenalin, noradrenalin, dopamin) ve bradikininlerdir.

a. Katekolaminler

Katekolaminler vasküler tonusun düzenlenmesinde oldukça önemli maddelerdir vasküler tonusun düzenlenmesinde etkili olan katekolaminler temelde böbrek üstü bezinin medullası ve sempatik sinir telinin ucundan salınırlar ve hücre yüzeyinde bulunan α ve β reseptörüne bağlanarak etkinlik gösterirler. Örneğin sentetik bir katekolamin olan fenilefrin hücre yüzeyinde bulunan α_1 reseptörüne bağlanarak fenilefrin-reseptör kompleksini oluştururlar bu kompleks hücre zarında bulunan G protein aracılığıyla fosfatidilinozitolden inozitol trifosfat ve DAG sentezlenmesini sağlar. IP_3 protein kinaz enzimini aktif hale getirir ve SR'dan hücre içerisine Ca salınımını uyarır. Salınan Ca kalmodulin ile birleşerek miyozin hafif zincir kinaz'ın aktivasyonunu sağlar. Aktif hale

gelen hafif miyozin kinaz inaktif olan miyozini fosforile ederek aktif hale getirir ve kontraksiyon şekillenir. DAG ise protein kinaz C yi uyararak CPI-17 aktivasyonu ile myozin fosfataz enziminin etkinliğini baskılar ve böylelikle miyozinin fosforilenmesi engellenmiş olur.

b. Bradikinin (BK)

BK vasküler tonusun düzenlenmesinde etkili bir vazodilatatör maddedir. Vazodilatasyona ilaveten damar permabilitesini arttırma ve fosfolipaz enziminin etkinleştirilmesinde görev alır. Endotel hücresinde prekalikrein denen madde ağır mölekül yapılı kininojen enzimi aracılığı ile kallikreine dönüştürülür. Kallikrein ise bradikinine dönüştürülerek sentezlenir. BK'nın hücrelerde BK1 ve BK2 diye isimlendirilen iki çeşit reseptörü vardır. Çeşitli çalışmalarla bradikinin reseptörlerinin kardiyo vasküler sistemin aort endotel hücrelerinde,[68] akciğer arterinde,[69] koroner arterlerde,[70] beyin damarlarında,[71] aort düz kas hücresinde,[72] kalp kapakçıklarında[73] ve miyokart[74] gibi çeşitli bölgelerinde bulunduğu belirlenmiştir. BK1 reseptörleri inflamasyon ve kronik ağrı durumunda görev alan reseptörken, vazodilatasyonun uyarılmasında esas etkili olan reseptör türü BK2 reseptörüdür. Bu reseptörün BK tarafından uyarılması sonucu endotel hücresinde NO ve EDHF sentezlenmesi ile aşağıda bahsedilecek mekanizmalar ile vasküler düz kas hücresinde gevşeme meydana gelmektedir.

2.3.5.3. Endotel kaynaklı faktörler

Endotelyum, vasküler tonusu, hücre çoğalmasını, trombositlerin ve lökositlerin damar duvarı ile etkileşimini düzenleyen, vasküler düz kas ile damar lümeni arasında uzanan bazal membran üzerinde yerleşmiş tek sıralı yassı epitel hücrelerden oluşan bir dokudur. Yetişkin bir insanda endotel hücrelerinin ağırlığı yaklaşık 1kg olup, 1-7m^2 lik bir yüzey alanı oluşturmaktadır.[75] Endotelyal doku kan damarlarının tonusunu

düzenlemede oldukça önemli bir role sahiptir.[76, 77] Çok sayıda vasodilatatör madde örneğin asetilkolin, histamin ve bradikinin endotel hücreleri içerisindeki Ca^{+2} seviyesini artırarak NO (nitrik oksit), PGI_2 (prostasiklin) ve EDHF (endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör) salınımına neden olurlar.[78] Salınan bu maddeler vazodilatör etkinliğe sebep olur.[79] Ayrıca endotelyal doku endotelinler, endotel hücre büyüme faktörleri, interlökinler ve plazminojen inhibitörleri gibi bir takım maddeler de salgılar.[80] 1980 li yıllardan önce damarların gevşeme ve kasılmasından asıl sorumlu mekanizmanın nörohumoral faktörlerin damar düz kasları üzerinde yaptığı etkiler ile olduğu düşünülmekteydi. Ancak 1980'li yıllardan sonra yapılan çalışmalardan elde edilen bulgulara göre vasküler tonusun kontrolünde endotelyumun esas rol aldığı ve NO, EDHF ve PGI_2 nin damarlarda güçlü vazodilatatörler olarak görev yaptıkları anlaşılmıştır.[79]

a. Nitrik oksit (NO)

Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak bilinen NO eşleşmemiş bir elektrona sahip olup yüksüz bir moleküldür. Yüksüz olduğu için membranlarından kolayca geçebilir ve eşleşmemiş bir elektrona sahip olması nedeni ile de hızlı reaksiyona girer. Yarı ömrü yaklaşık olarak 20-30 sn dir.[81] Endotelyal gevşetici faktör varlığı ilk Furchgott ve Zawadzki tarafından 1980 yılında tavşan aort halkasında sağlam bir endotel varlığında asetilkoline (Ach) gevşeme yanıtı elde edilmesi ile fark belirlenmiştir.[77] NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin etkisi ile L-arjininden sentezlenmektedir. NOS'un nöronal (nNOS), sitokinle-indüklenen (iNOS) ve endotelyal (eNOS) olmak üzere üç ayrı izotipinin olduğu yapılan çalışmalar sonucu belirlenmiştir.[82, 83] eNOS hücre zarının invajinasyonu ile oluşan 'kaveola' olarak isimlendirilen,[84] hücre zarının hemen altında yerleşmiş keseciklere kimyasal bağlarlar vasıtası ile tutunur. Kaveola kolesterol ve sfingolipidden zengin, fosfolipidden fakirdir.[85] Kaveola, birçok dokuda G proteini, protein kinaz gibi madddenin kümelendiği bir yapıdır.[84] Hiperkolesterolemi gibi

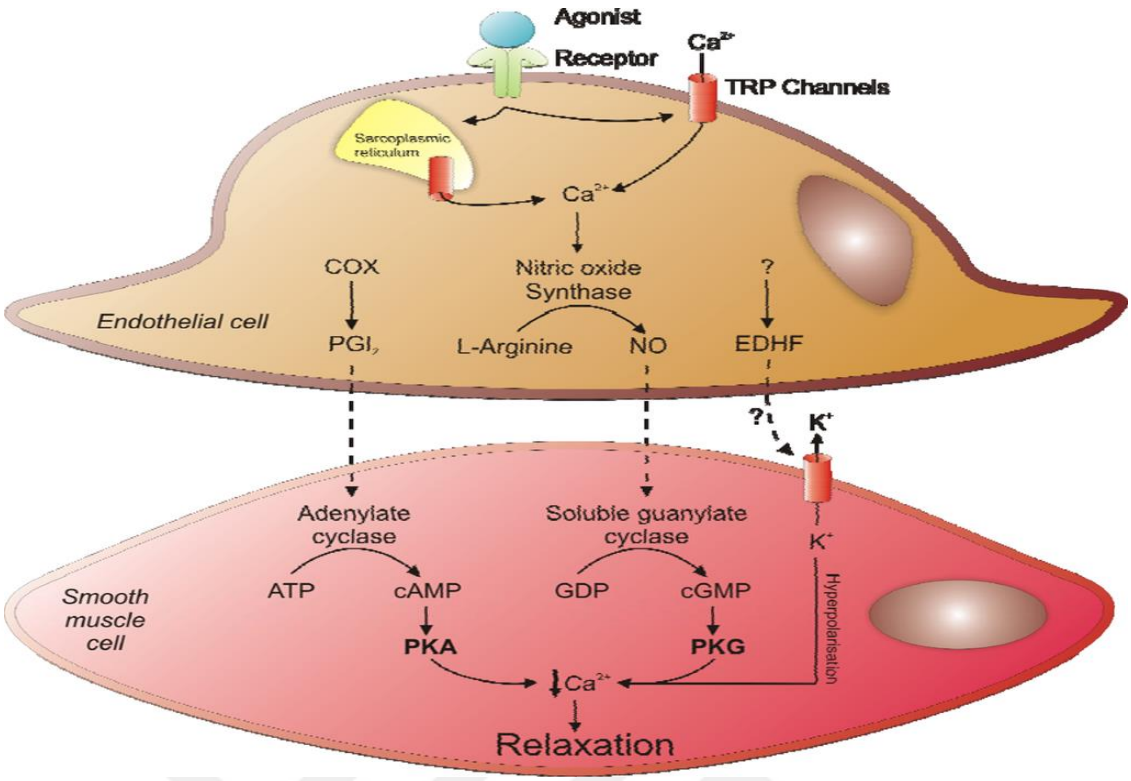
mebranının lipid komposizyonunda değişikliğe yol açan faktörler kaveolanın fonksiyonunu bozarak NOS aktivitesini olumsuz yönde etkileyebilir.[86] NO normal şartlarda sürekli olarak salınırken, çeşitli fizyolojik agonistler, shear stres (sürtünme sitresi) ve farmakolojik ajanlar da eNOS enzimini stimüle ederek NO sentezini arttırırlar.[87] Nitrik oksit, damar düz kaslarında guanil siklaza bağlanarak onun aktivitesini artırır. Bu enzimin aktivasyonu ile soluble guanozin mono fosfat (sGMP) açığa çıkar ve bu protein kinazı G'yi aktive eder. Aktif protein kinaz G potasyum kanallarını açılmasını, hücre içindeki depolarda bulunan Ca^{+2} salınımını engelleyerek, sarkoplazmik retikuluma Ca^{+2} iyonunu geri pompalayarak ve ayrıca hücre zarından voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları kapatarak hücre içerisindeki Ca^{+2} seviyesinin azalmasına, böylelikle damarın gevşemeye neden olur.[88]

b. Prostasiklin (PGI2)

Siklooksijenaz (COX) enzim aktivasyonuyla endotelden kaynaklanan güçlü bir vazodilatör ajan olup,[89] araşidonik asitten sentezlenir ve yarılanma süresi yaklaşık olarak 10sn'dir.[80, 90] PGI_2 salınımını pulsatil basınç, asetil kolin (ACh) bradikinin, trombin, serotonin ve trombosit kökenli büyüme faktörü gibi çeşitli maddeler uyarmaktadır. PGI_2 damar tonusunun düzenlenmesinde önemli rol oynar. Endotelden salınan PGI_2 damar düz kas hücresinde AC (adenilat siklaz) enzimini uyararak cAMP oluşmasını sağlar oluşan cAMP protein kinaz A yı uyarır. Etkin hale gelen protein kinaz A enzimi Ca^{+2} duyarlı K^+ kanallarının açılmasını uyararak hücre içerisinde hiperpolarizasyona neden olur. Hücre zarında meydana gelen hiperpolarizasyon membrandaki voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarının açılmasını önler bu durum vasküler düz kas hücresinde gevşemeye neden olur.[91]

c. Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF)

Çeşitli çalışmalarla endotelden salınan NO ve prostasiklin dışında vazodilatatör etkinliğe sahip olan bir maddenin olduğu belirlenmiştir. Bu maddenin vazodilatatör etkinliğinin K^+ kanal blokörleri kullanıldığında ortadan kalktığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda vazodilatatör etkinin K^+ kanalları aracılığı ile olduğu düşünülmüştür. K^+ kanalları uyarıldığı zaman hücre içerisindeki K^+ iyonlarının dışarı çıkması ile hücre membranında hiperpolarizasyon meydana gelmekte bunun sonucunda hücre yüzeyindeki voltaja duyarlı Ca^{+2} kanalları kapanarak vazodilatasyon oluşmaktadır. Bu nedenle bu etkinliği meydana getiren maddeye EDHF adı verilmiştir. İlk olarak insan mezenter arterinde belirlenen EDHF'nin daha sonra yapılan çalışmalarla koroner damarlarda da etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. EDHF'ün küçük damarlar üzerine olan etkisi büyük damarlara göre daha fazladır. NO'in ise aksine büyük damarlardaki etkinliği küçük damarlara kıyasla daha fazladır. EDHF'ün hangi molekülden sentezlendiği tam olarak bilinmemekle beraber araşidonik asit metabolitlerinden olan Epoksieikosatrenoik asitin (EETs) olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 2.12. Endotelten salınan vazodilatatör etkinliğe sahip maddeler ve damar düz kasındaki etkileri.[92]

d. Endotelinler

Endotelden vasodilatatör maddelerin yanı sıra vasokontriktör maddeler de salınmaktadır. Bunlardan en iyi bilineni endotelindir (ET). Endotelinler ET-1, ET-2 ve ET-3 olmak üzere üç çeşit olup sadece ET-1 endotelden salınmaktadır. ET-2 hipofiz bezinde ve gastrointestinal kanalda bulunurken ET-3 ise gastrointestinal kanal, beyin ve böbrekte bulunduğu belirlenmiştir. ET-1 endotel hücresinde preproendotelin-1'in endotelinpeptidaz enzimi aracılığı ile proendotelin-1'e dönüştürülür, bu madde de endotelin konvertik enzim aracılığı ile endotelin-1'e dönüştürülerek sentezlenmektedir. Endotelinlerin hedef hücrede ET_A ve ET_B diye iki reseptörünün olduğu belirlenmiştir. ET-1 damarda güçlü vazokntriksiyon etkinliğe sahip olup neden olduğu bu etkinlik yavaş başlayıp saatler hatta günlerce devam edebilir. ET-1'in bu etkinliği ET_A ve ET_B reseptörlerine bağlanması sonucu hücrede G-proteinine bağlı fosfolipaz C'nin

aktivasyonuna yol açar. Bu da fosfatidil inositolün hidrolizine ve sitozolik inositol trifosfat ve membrana bağlı diaçilgliserol oluşumuna neden olur. İnositol trifosfat intrasellüler depolardan Ca^{+2} salınımı artırarak hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun hızlı bir şekilde artmasına neden olur. DAG protein kinaz C'yi aktive eder ve damarda kontraksiyon meydana gelir. Vazokontriktör etkinliğine ilaveten ET-1'in hücre proliferasyonu ve lökosit adezyonunu da uyarıcı etkisi vardır. Bu etkilerinden dolayı inflamasyon ve angiogeneziste önemli rol oynadığı bilinmektedir.

2.4. Damar Düz Kasında Bulunan İyon Kanalları

2.4.1. Kalsiyum (Ca^{+2}) kanalları

Düz kas hücrelerinde hücre zarında voltaja bağlı Ca^{+2} kanalları (VDCs), depo kontrollü Ca^{+2} kanalları (SOCC) ve reseptörle açılan Ca^{+2} kanalları (ROCs) olmak üzere üç çeşit kalsiyum kanalı mevcuttur.[93, 94]

Voltaja duyarlı kalsiyum kanallar; Damar düz kas hücrelerinde özellikle L- tipi Ca^{+2} kanalları baskın olup bunla beraber T-tipi Ca^{+2} kanalları da bulunur. L-tipi voltaja duyarlı kanallar vasküler tonusun düzenlenmesinde oldukça önemli rol oynar. Hücre membranında meydana gelen depolarizasyon sonucu voltaja duyarlı Ca^{+2} kanalları açılarak hücre içine Ca^{+2} girer ve hücre içersine giren Ca^{+2} iyonları sitoplazmada kalmodulin ile bağlanarak miyozin hafif zincir kinaz'ın aktivasyonunu sağlar. Aktif hale gelen miyozin hafif zincir kinaz inaktif olan miyozini fosforile ederek aktif hale getirir aktif miyozin aktin flamentine bağlanır ve kontraksiyon şekillenir.

Reseptöre bağlı kalsiyum kanalları; Hücre zarında bulunan bu kanallar çeşitli agonistler (fenilefrin gibi) tarafından uyarılınca açılan kanallardır. Bu kanalların açılması ile hücre membranında bulunan G protein akitive edilir böylelikle fosfolipaz C enzimi etkinleştirilir etkin hale gelen bu enzim fosfatidilinozitolden inozitol trifosfat ve DAG oluşumunu uyarır. [95] Bu olaylar neticesinde IP3 sarkoplazmik retikulumdan

sitozole kalsiyum salınımı artarır. Ca^{+2} iyonları stoplazmadaki kalmodulin ile bağlanarak kalsiyum-kalmodulin kompleksini oluşturur, bu kompleks yukarda bahsedildiği gibi kontraksiyonu uyarır. DAG ise protein kinaz C yi uyararak CPI-17 aktivasyonu ile myozin fosfataz enziminin etkinliğini baskılar ve böylelikle miyozinin fosforilenmesi engellenmiş olur.

Bu kanallar aynı zamanda hücre içerisindeki Ca^{+2} seviyesini düzenleyerek hücre proliferasyonu, apaptozu ve neurotranmitter salınımını kontrol ederler.

Depo aracılı kalsiyum kanalları; Hücre membranı üzerinde bulunan bu kanallar hücre içerisinde depo edilmiş Ca^{+2} iyonlarının stoplazmaya salınımını kontrol ederler. Bu kanallar uyarıldıkları zaman sarkoplazmik retikulum üzerinde bulunan IP3 ya da ryanodin reseptörü aracılığı ile sarkoplazmik retikulumdan sitoplazmaya Ca^{+2} salınımını olur. Hücre içerisinde Ca^{+2} seviyesinin artması sonucu yine yukarda bahsedilen mekanizma ile kontraksiyona meydana gelir.

2.4.2. Klor (Cl^-) kanalları

Cl^- kanalının çeşitli çalışmalarla Ca^{+2} ile aktive edilen Cl^- kanalları (CACCs), cystic fibrosis transmebrane conductance regülatör (CFTR) ve ligand kapılı GABA - glisin reseptör kanalı olmak üzere 3 tipinin olduğu belirlenmiştir. CACCs'ları hücre membranının uyarılabilirliğinde oldukça büyük bir öneme sahiptir. Bu kanallar damar düz kasında, kalp kası hücrelerinde, sinirlerde, kan hücrelerinde ve epitel hücrelerinde bulunmaktadır. CI^- kanalları hücre içerisindeki Ca^{+2} konsantrasyonu 0,2-5µM olduğunda etkin hale geçmektedirler. CACCs'larının aktivasyonu hücre içerisindeki depolardan veya voltaja duyarlı kapılardan Ca^{+2} iyonu girişi ile aktive olmaktadırlar. Aktive olan bu kanallardan CI^- iyonu dışarı geçişi ile hücre membranın depolarize olmasına neden olur. Meydana gelen depolarizasyon dalgası voltaja duyarlı kapılardan hücre içerisine Ca^{+2}

girişinin artmasına neden olur böylece düz kas hücresinde kontraksiyon meydana şekillenir.

2.4.3. Potasyum (K^+) Kanalları

Damar tonusunun düzenlenmesinde önemli rol alan diğer bir iyon kanalı da K^+ kanallarıdır. Düz kas hücrelerinde üç tip K^+ kanalı bulunur. Bunlar Ca^{+2} iyonu ile aktive olan K^+ kanalları, ATP' ye duyarlı K^+ kanalları ve voltaja duyarlı (A tipi) K^+ kanallarıdır.[96] Bu kanallar açıldığında K^+ iyonlarının dışarı çıkması sonucu membranda hiperpolarizasyon oluşmakta ve sonuç olarak vazodilatasyon meydana gelmektedir.[97]

Kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları; Ca^{+2} ile aktive olan K^+ kanalları, iletkenliği büyük (150-250 pikosiemens (pS)) ve iletkenliği küçük (20-40 pS) olan potasyum kanalları olmak üzere iki çeşittir. Bu kanalların aktivasyonu hücre içi kalsiyum iyon konsantrasyonu ile ilişkilidir. Hipertansiyon durumunda bu kanalların sayısı artarak negatif feedback etkinlik yapmaktadırlar böylelikle kan basıncının düzenlenmesinde oldukça önemli role sahiptirler. Bu kanalların etkinlikleri tetraetilamonyum (TEA), tetrabutilamonyum (TBA) ve apamin gibi bir takım maddeler kullanılarak bloke edilmektedir.[98]

ATP'ye duyarlı potasyum kanalları (KATP); ATP'ye duyarlı K^+ kanallar ilk olarak Noma tarafından kalp miyositlerinde tanımlanmıştır. Hücre içi ATP seviyesi fizyolojik aralıkta olduğu zaman bu kanallar kapalı konumdadır. Hücre içi ATP miktarı normal değerin altına düşünce aktive olmakta ve hücre içerisindeki K^+'un dışarı çıkışı ile hücrede hiperpolarizasyon meydana gelmektedir. ATP seviyesi yüksek olduğu durumlarda ise bu kanallar kapalı durumdadır. ATP'ye duyarlı K^+ kanallarının esasen kalp hücrelerinde bulunduğu bununla birlikte damar düz kas hücrelerinde de mevcut olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Bu kanallar glibenklamid ile bloke edilmekte, kromakalim gibi K^+ kanal açıcıları tarafından aktive edilmektedirler. KATP kanallarının

aktivasyonu ile K^+ iyonlarının hücre dışına çıkması sonucu düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyon oluşur ve böylece gevşeme meydana gelir. [99]

Voltaja duyarlı K^+ kanalları; Hücre zarlarında, membran potansiyeli eşik değerin altında olan bölgelerde geçici olarak aktive olan ve hızlı inaktive olan K^+ kanalları bulunmaktadır bu kanallar voltaja duyarlı K+ kanalları olarak tanımlanmıştır. Bunlara aynı zamanda A tipi K^+ kanalları (KA^+) adı da verilmektedir. Bu kanalların uyarılması sonucu K^+ iyonunun dışarı çıkması hücre membran potansiyelinin negatif olmasına ve düz kas hücresinin gevşemesine neden olmaktadır. Bu potasyum kanallarının etkinliği aminopyridine tarafından bloke edilmektedir.[100]

2.5. Endotel Fonksiyon Bozukluğuna Neden Olabilecek Durumlar

2.5.1. Ateroskleroz

Endotel hasarı sonucu düşük dansiteli lipoproteinler, geçirgenliği artan endotelyal hücre tabakasından subendotelyal tabakada birikmeye başlarlar.[101] Monositler endotel hücrelerinin arasından geçip endotel hücrelerinin altında makrofajlara dönüşürler. Böylece okside olmuş düşük dansiteli lipoproteinleri (LDL)'leri fagosite ederek köpük hücrelerini oluştururlar.[102] Hiperkolesteroleminin devamında; monosit ve lenfosit adhezyonu, düz kas hücrelerinin intimaya göçü, makrofaj ve düz kas hücrelerinde lipid birikiminin sonucunda intima tabakasında yağlı çizgilenmeler oluşur. Düz kas hücrelerinin sayıca çoğalması bu yağlı çizgilenmeleri 'fibrofatty ateroma'ya çevirir. Bu aşamadan itibaren intimal plak; bağ dokusu içinde düz kas hücreleri ve fibroblastlar tarafından sarılmış köpük hücreleri haline gelir. Alandaki biriken lipoproteinler okside olarak modifikasyona uğrarlar. Fibröz plaklar ekstrasellüler hücre ölümü ve dejenerasyonuyla büyürler.[101] Aterosklerotik doku gelişmiş olur ve damar lümenine doğru büyüyen plak damar elastikiyetinin bozulmasıyla beraber kan akımının engellenmesiyle alakalı bir duruma yol açan bir manzara ortaya çıkarır.

2.5.2. Hipertansiyon

Hipertansiyon arteriyel kan basıncının sürekli olarak normalden yüksek olması durumu olarak tanımlanmaktadır**.** Kan basıncının uzun süreli yüksek olması, canlılarda endotel fonksiyon bozukluğunun geliştiğinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu durumun altında yatan sebepler arasında, NO'in üretiminde artış olmasına rağmen, superoksit anyonlarının üretimindeki artışa bağlı NO aktivitesinin ve üretiminin baskılanması ve endotelin-1 üretimindeki artışa bağlı olarak NO üretiminin azalması olduğu düşünülmektedir.[103, 104]

2.5.3. Hiperkolesterolemi

Hiperkolesterolemi, endotel foksiyonunda pek çok değişikliğe yol açar. Bu değişikliklerden önemlileri; NO biyoaktivitesinin azalması, superoksit üretimi, adezyon moleküllerinde artış ve endotel bağımlı vazodilatasyonda azalma şeklinde ifade edilebilir.[105] Kolesterolün oluşturduğu endotel fonksiyon bozukluğunun sadece LDL kolesterol düzeyine bağlı olmayıp, LDL kolesterol oksidasyonu ile ilgili olduğu rapor edilmiştir.[106] Yapılan çalışmalarda LDL'nin endotelin üretiminin uyarıcısı olduğu belirlemiştir. Endotel foksiyon bozukluğu hiperkolesteroleminin ilerleyen evrelerinde daha yaygın hale gelmektedir. Bununla birlikte, serbest yağ asitleri ve trigliseridlerin kan düzeylerinin, yemek sonrasında akut yükselişi de uzunca bir süre vazodilatatör yanıtın baskılanmasına neden olduğu bildirilmektedir.[107]

2.5.4. Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus insülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisinde birden meydana gelen bozukluk sonucu karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki dengesizliğin eşlik ettiği hiperglisemiyle sonuçlanan metabolik bir hastalıktır.[108, 109] Diyabetli hastalardaki endotel foksiyon bozukluğunun temel sebebi, dislipoproteinemi ve reaktif oksijen radikallerindeki artış sonucudur. [103] Ayrıca glikozun enzimatik yollarla

oksidasyonu sonucu oluşan son ürünler de LDL kolesterol oksidasyonunu arttırarak endotel fonsiyonunda bozulmaya yol açmaktadır. [110] LDL oksidasyonu, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil gibi reaktif oksijen üretimine neden olur. Serbest radikallerin üretimi endotel hücrelerince NO salınımını azaltır ve sub-endotelyal yüzeyde NO'i inaktive eder.[111] Böylece endotel fonksiyonu yerine getirilemediğinden vasküler tonusun düzenlenmesi ve dolayısıyla dolaşımla alakalı problemler ortaya çıkar.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2014/13 kararı ile onaylandı ve ÖYP (Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı) birimi tarafından desteklendi.

3.1. Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları

Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen, ortalama 200-250 gr ağırlığında, 10-12 haftalık, ergin 40 adet erkek Sprague Dawley rat kullanıldı. Tüm hayvanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık deney hayvanları ünitesi ortamında, %55-60 nem oranı ve 22 °C oda sıcaklığında bakım ve standart pelet yem ile beslemeye tabi tutuldu. Deneyler süresince etik kurallara ve koşullarına riayet edildi.

3.2. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Dozları

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler ve dozları aşağıda belirtildiği gibi düzenlendi. Çalışmada kullandığımız etken maddeler;

4-Hydroxyacetophenone (Sigma, CAS numarası: 99-93-4)**;** Ziziphora clinopoides Lam.'ın yapısında bulunan bileşiktir. Banyo ortamına final konsantrasyonları 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M/ml dozlarında olacak şekilde kullanıldı.

Glibenclamide (Sigma, CAS numarası: 10238-21-8)**;** ATP'ye duyarlı K^+ kanal blokörüdür. Damar düz kasında ATP'ye duyarlı K^+ kanallarını bloke etmek için 10 mM/ml dozunda kullanıldı.

SQ22536 (Sigma, CAS numarası: 17318-31-9)**;** Adenilat siklaz enziminin inhibitörüdür. Adenilat siklaz enziminin etkinliğini engellemek için 100 μM/ml dozunda kullanıldı.

Propranolol (Sigma, CAS numarası:318-98-9)**;** β_2 reseptör antagonistidir. β_2 reseptör antagonisti olarak 1μM/ml dozunda kullanıdı.

L-NAME (Sigma, CAS numarası:)**;** Nitrik oksit sentetaz (NOs) enzim inhibitörüdür. NOs'un etkinliğini engellemek için 10 μM/ml dozunda kullanıldı.

4-aminopyridine (Sigma, CAS numarası: 504-24-5)**;** voltaja duyarlı K^+ kanal antagonistidir. Voltaja duyarlı K^+ kanal etkinliğini engellemek için 1mM/ml dozunda kullanıldı.

TEA (Sigma, CAS numarası: 56-34-8)**;** Ca^{+2} aracılı K^+ kanal antagonistidir. Ca^{+2} aracılı K^+ kanalının etkinliğini engellemek için 1mM/ml dozunda kullanıldı.

ODQ (Sigma, CAS numarası: 41443-28-1)**;** Guanil siklaz enzim blokörüdür. Guanil siklaz enziminin etkinliğini önlemek için 1μM /ml dozunda kullanıldı.

Atropine (Sigma, CAS numarası:51-55-8)**;** muskarinik reseptör antagonistidir. Muskarinik reseptörleri bloke etmek için 1μM/ml dozunda kullanıldı.

SKF96365 (Sigma, CAS numarası:1304995-35-1); reseptör aracılı Ca^{+2} kanal antagonistidir. Reseptör aracılı Ca^{+2} kanalının etkinliğini engellemek için 10 μM/ml dozunda kullanıldı.

U73122 (Sigma, CAS numarası:112648-68-7); fosfolipaz C inhibitörüdür. Fosfolipaz C enziminin etkinliğini engellemek için 10 μM/ml dozunda kullanıldı.

Fenilefrin (Sigma, CAS numarası:61-76-7); rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını indükleyici ajan olarak 10^{-7} M/ml dozunda kullanıldı.

İndomethacine (Sigma, CAS numarası: 53-86-1); siklooksigenaz enzim inhibitörüdür. Siklooksigenaz etkinliğini bloke etmek için 10 μM/ml dozunda kullanıldı.

ACh (Sigma, CAS numarası: 60-31-1)**;** Muskarinik reseptör agonistidir. Rat torasik aort düz kaslarından gevşeme yanıtı elde etmek amacı ile 1μM dozunda kullanıldı.

KCl (Sigma, CAS numarası: 7447-40-7); rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını indükleyici ajan olarak 40 mM/ml dozunda kullanıldı.

Nifedipine (Sigma, CAS numarası: 21829-25-4); L-tipi Ca kanal antagonistidir. L-tipi Ca kanallarını bloke etmek için 10^{-7} M/ml dozunda kullanıldı.

Ketamine hidroklorid (Sigma, CAS numarası: 1867-66-9) ve **Xylazine hydrochloride (rompun)** (Sigma, CAS numarası: 23076-35-9); ratları anestezi altına almak için sırasıyla 75mg/kg -15 mg/kg dozunda kullanıldı.

Krebs Solüsyonu;

İzole edilmiş rat torasik aort dokusunun dış ortamda canlılığını koruyabilmesi ve etrafındaki bağ dokuyu temizlemek için kullanılan krebs solüsyonu aşağıda maddeleri belirtilen oranlarda içermektedir;

NaCl (119 mM), KCl (4.75 mM), KH_2PO_4 (1.2 mM), $NaHCO_3$ (25 mM), $MgSO_4$ (1.5 mM), $CaCl_2$ (2.5 mM)ve glikoz (11 mM).

3.3. Araştırmada Kullanılan Alet ve Malzemeler

İzole organ banyosu; aorttan hazırlanan halkaların canlılığını korumak ve kimyasal bileşik ve etken maddelere karşı biyolojik aktivitelerini test etmek için kullanılan sistemdir.

İzometrik transduser; aort halkalarının uygulanan etken maddeye verdiği cevapları, elektriksel sinyallere çevirerek amplifikatör sistemine aktarmak için kullanıldı.

Amplifikatör; izometrik transduserden alınan elektriksel sinyalleri büyüterek data analiz sistemine aktarmak için kullanılan gerim transdüseridir.

Data analiz sistemi; amplifikatörden alınan elektriksel sinyallerin bilgisayar kayıt sistemine göre düzenlenip aktarılması sağlayan sistemdir.

Bilgisayar kayıt sistemi; data analiz sisteminden alınan elektriksel sinyallerin IOX yazılımı ile rakamsal değerlere dönüştürmek ve kaydetmek için kullanılan sistemdir.

Sirkülatörlü su banyosu; izole organ banyo ortamının sıcaklığının sürekli 37℃'de tutulması sağlamak için kullanıldı.

Karbojen tüpü (%95 O_2, %5 CO_2); dokunun O_2 ihtiyacını karşılamak için kullanıldı**.**

Dijital termometre; organ banyosunun sürekli sabit tutulan sıcaklığının kontrolü için kullanıldı.

Buzdolabı; kimyasal maddeleri muhafaza etmek için kullanıldı.

Etüv; cam malzemelerin yıkandıktan sonra kurutulması için kullanıldı.

Mikropipetler; Kimyasal bileşiklerin ve etken maddelerin belirlenen dozlarda banyo ortamına verilmesi için kullanıldı.

pH metre; Hazırlanan Krebs solüsyonunun pH'sının ayarlanması için kullanıldı.

Isıtmalı manyetik karıştırıcı; Krebs solüsyonu, kimyasal bileşikler ve etken maddelerin hazırlanması için kullanıldı.

Makas; değişik ebatlarda kullanılan makaslar torasik aort düz kas preparatının hazırlanması için kullanıldı.

Pens; değişik ebatlarda kullanılan pensler ratların diseksiyonunda ve torasik aort düz kas preparatının hazırlanmasında kullanıldı.

Hassas terazi; Kimyasal maddelerin ve etken maddelerin tartımı için kullanıldı.

Erlen; Krebs solüsyonunun hazırlanması için kullanıldı.

Petri; içerisinde krebs solüsyonu bulunan petri kabı, damar dokusunun temizliği ve halkaların hazırlanması için kullanıldı.

Mezür; Krebs solüsyonu ve diğer solüsyonların hazırlanması için gerekli çözücünün ölçümünde kullanıldı.

3.4. Rat Aort Halkasının İzole Organ Preparatı Olarak Hazırlanması

Deneylerden önce ratların bakım ve beslenme şartlarına herhangi bir kısıtlama yapılmadı. Ketamine hydrochloride (Ketalar: 75mg/kg) ve xylazine (Rompun: 15 mg/kg) eşliğinde anesteziye alınan hayvanlar servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi edildi. Median hattan göğüs kafesi açıldı (Şekil 3.1) ve aort çıkarılarak içerisinde Krebs solüsyonu bulunan petri kabına alındı. Aort çevresindeki bağ dokular temizlendi ve aortan 3-4 mm boyutunda iki halka elde edildi (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3). Endotelsiz gurup için oluşturulan aort preparatlarında endotel katmanını ortadan kaldırmak için makas ucu ile kas dokusuna zarar vermeden hafifçe kazındı. Elde edilen aort halkaları pH'sı 7.4 ve sıcaklığı 37℃ olan, %95 O_2 ve %5 CO_2 ile gazlandırılan Krebs solüsyonu içeren (mM: NaCl 119, KCl 4.75, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 25, $MgSO_4$ 1.5, $CaCl_2$ 2,5, glukoz 11) 10ml organ banyosuna yerleştirilerek alt ucu banyo tabanındaki çelik çengele üst ucu ise bir çelik tel ile transdusüre (ELJ-S045C-EMKA-R04003 ve R04004) bağlandı (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5). Aort halkalarına banyo ortamında 1gr gerim uygulandı ve 1 saatlik inkübasyon periyoduna tabi tutuldu. Bu sırada banyo ortamı 15 dk'lık periyotlarla banyo ortamı için hazırlanan Krebs solüsyonu ile yıkandı. İnkübasyon periyodu sonunda Tablo 3.1 ve Tablo 3.2'de belirtilen protokollerde gösterildiği gibi agonistlerin, antagonistlerin ve etken madde olarak değerlendirdiğimiz 4-hydroxyacetophenone uygulamaları yapıldı. Çalışmada kullanılan etken madde, agonist ve antagonistler için doz cevap eğrisi yapılmadı. Literatürde belirtilen dozlar esas alınarak çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan etken madde, agonist ve antagonistler Tablo 3.3 te gösterilmiştir. Agonistlere gram cinsinden aort düz kas halkalarının vermiş oldukları maksimal kasılma eğrileri %100 olarak kabul edilip diğer kasılma ve gevşeme yanıtları % değerler olarak hesaplandı.

Tablo 3.1. L-NAME varlığında FE ile uyarılmış endotelli aort düz kas halkaları üzerine 4-HAP'ın gevşetici etkinliğinin araştırıldığı deneysel protokol.

Test Anı	Zaman	Prosedür		Beklenen Reaksiyon	Test Döngüsü
0 dk	15 dk	Yıkama	İnkübasyon	Banyo Ortamına Uyum	Bu bölüm bir kez yapıldı
60dk	15 dk	Yıkama			
	15 dk	Yıkama			
	15 dk	Yıkama			
10 dk	10 dk	10^{-7} M FE uygulaması		Kontraksiyon	Bu bölüm iki kez tekrarlandı
20 dk	4 dk	10^{-6} M 4-HAP uygulaması	Etken madde kümülatif olarak uygulandı,	Gevşeme	
	4 dk	10^{-5} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-4} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-3} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-2} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
10 dk	10 dk	Yıkama (üç kez tekrarlandı)		Bazal dengeye dönme	
20 dk	20 dk	10µM L-NAME uygulaması		NOS(Nitrik oksit sentetaz inhibisyonu)	Bu bölüm iki kez takrarlandı
10 dk	10 dk	10^{-7} M FE uygulaması		Kontraksiyon	
20 dk	4 dk	10^{-6} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-5} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-4} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-3} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-2} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
10 dk	10 dk	Yıkama		Bazal dengeye dönme	

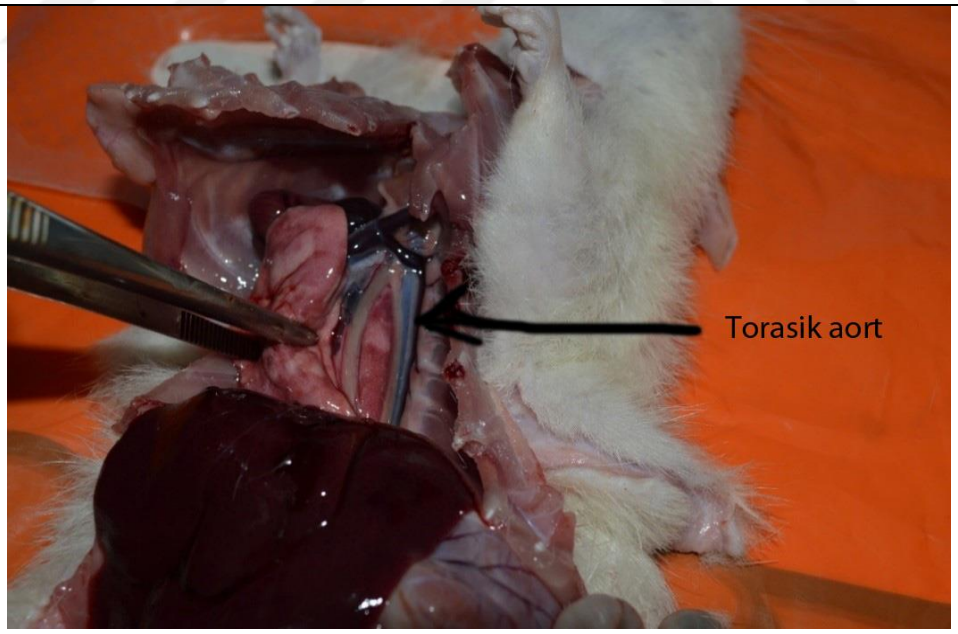
Bu protokol endotelli ve endotelsiz aort düz kas halkalarının hepsinde Tablo 3.3'te belirtilen antagonistlerin her biri için ayrı ayrı tekrarlandı.

Tablo 3.2. L-NAME varlığında KCI ile uyarılmış endotelli aort düz kas halkaları üzerine 4-HAP'ın gevşetici etkinliğinin araştırıldığı deneysel protokol.

Test Anı	**Zaman**	**Prosedür**		**Beklenen Reaksiyon**	**Test Döngüsü**
0 dk	15 dk	Yıkama	İnkübasyon	Banyo Ortamına Uyum	Bu bölüm bir kez yapıldı
60dk	15 dk	Yıkama			
	15 dk	Yıkama			
	15 dk	Yıkama			
10 dk	10 dk	40 mM KCI uygulaması		Kontraksiyon	Bu bölüm iki kez tekrarlandı
20 dk	4 dk	10^{-6} M 4-HAP uygulaması	Etken madde kümülatif olarak uygulandı,	Gevşeme	
	4 dk	10^{-5} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-4} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-3} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-2} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
10 dk	10 dk	Yıkama (üç kez tekrarlandı)		Bazal dengeye dönme	
20 dk	20 dk	10µM L-NAME uygulaması		NOS(Nitrik oksit sentetaz inhibisyonu)	Bu bölüm iki kez takrarlandı
10 dk	10 dk	40 mM KCI uygulaması		Kontraksiyon	
20 dk	4 dk	10^{-6} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-5} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-4} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-3} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
	4 dk	10^{-2} M 4-HAP uygulaması		Gevşeme	
10 dk	10 dk	Yıkama		Bazal dengeye dönme	
Bu protokol endotelli ve endotelsiz aort düz kas halkalarının hepsinde Tablo 3.3'te belirtilen antagonistlerin her biri için ayrı ayrı tekrarlandı.					

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan etken madde, agonist ve antagonistler.

Gruplar	Etken madde	Agonist	Antagonist
Endotelli	4-Hydroxyacetophenone (4-HAP)	FE ve KCI	L-NAME (NOS inhibitörü)
			Propranalol (β_2 reseptör antagonisti)
			Atropin (Muskarinik reseptör antagonisti)
			İndomethacin (COX enzim inhibitörü)
			ODQ (Guanil siklaz inhibitörü)
			SQ 22.536 (Adenil siklaz enzim inhibitörü)
Endotelsiz	4-Hydroxyacetophenone (4-HAP)	FE ve KCI	TEA (Ca^{+2} aracılı K^+ kanal blokörü)
			Glibenclamide (ATP'ye duyarlı K^+ kanal blokörü)
			4-aminopyridine(Voltaja duyarlı K^+ kanal blokörü)
			Nifedipin (L-tipi Ca^{+2} kanal antagonisti)
			SKF96365 (Depo aracılı Ca^{+2} kanal antagonisti)
			U73122 (Fosfolipaz C enzim inhibitörü)



Şekil 3. 1. Servikal dislokasyon ile ötenazi edilmiş rattan torasik aortun izole edilmesi.



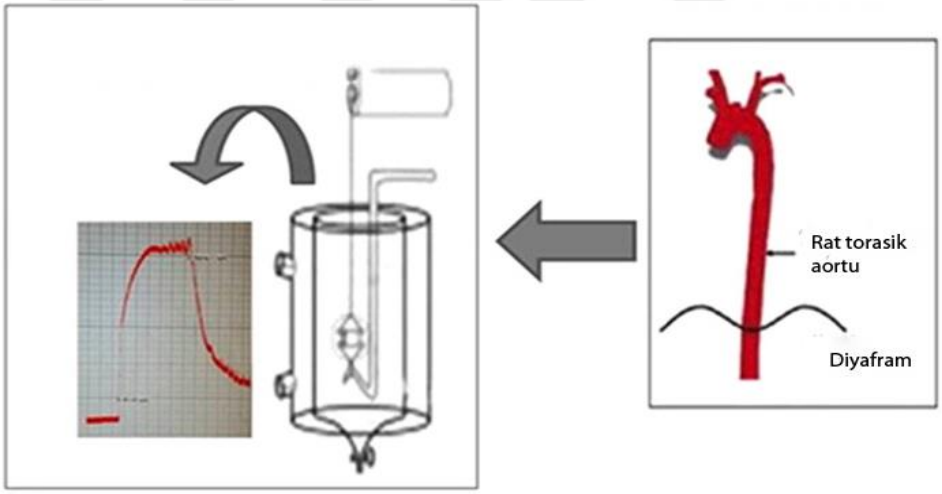
Şekil 3. 2. Seroza ve bağ dokusundan arındırılmış rat torasik aortu.



Şekil 3. 3. İzole edilmiş torasik aortun temizlenmesi ve kesit alınması.



Şekil 3. 4. İçerisinde krebs solüsyonu bulunan izole organ banyosuna asılmış rat torasik aort düz kas halkası.



Şekil 3. 5. Torasik aort halkasının izolasyonu ve organ banyosuna asılmasının şematik gösterimi.[112]

3.5. Deney Grupları

Çalışmada oluşturulan deney grupları Tablo 3.4 te gösterilmiştir. Deney gruplarının tanımları aşağıdaki gibidir.

A Grubu; Deney hayvanlarından elde edilen FE ve KCI ile indüklenmiş endotelli aort düz kas halkaları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının gevşetici etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A1 Grubu; 10^{-7} M FE ile indüklenmiş endotelli aort düz kas halkaları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının gevşetici etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A1-1 grubu; FE (10^{-7} M) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4- Hydroxyacetophenon'un (4-HAP) çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A1-2 grubu; L-NAME (10μM) varlığında FE (10^{-7} M) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4- HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A1-3 grubu; İndomethacin varlığında (10 μM) Fenilefrin (10^{-7} M) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4- HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A1-4 grubu; Propranolol varlığında (1μM) Fenilefrin (10^{-7} M) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4- HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A1-5 grubu; Atropin varlığında (1μM) Fenilefrin (10^{-7} M) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A1-6 grubu; ODQ varlığında (1μM) Fenilefrin (10^{-7} M) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları ı üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A1-7 grubu; SQ22.536 varlığında (100 μM) Fenilefrin (10^{-7} M) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4- HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A2 grubu; 40mM KCI ile indüklenmiş endotelli aort düz kas halkaları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının gevşetici etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A2 -1 grubu; KCI (40 mM) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A2-2 grubu; L-NAME (10μM) varlığında KCI (40 mM) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A2-3 grubu; İndomethacin varlığında (10 μM) KCI (40 mM) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 44-HAP'ın çeşitli dozlarının (1^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A2-4 grubu; Propranolol varlığında (1μM) KCI (40 mM) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A2-5 grubu; Atropin varlığında (1μM) KCI (40 mM) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A2-6 grubu; ODQ varlığında (1μM) KCI (40 mM) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

A2-7 grubu; SQ22.536 varlığında (100 μM) KCI (40 mM) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B Grubu; Deney hayvanlarından elde edilen FE ve KCI ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas halkaları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının gevşetici etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B1 Grubu; 10^{-7}M FE ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas halkaları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının gevşetici etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B1-1 grubu; FE (10^{-7} M) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B1-2 grubu; TEA (1mM) varlığında FE (10^{-7} M) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B1-3 grubu; Glibenclamide (10μM) varlığında FE (10^{-7} M) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B1-4 grubu; 4-Aminopyridine (1mM) varlığında FE (10^{-7} M) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B1-5 grubu; Nifedipine (10^{-4} M) varlığında FE (10^{-7} M) indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B1-6 grubu; SKF96365 (10μM) varlığında FE (10^{-7} M) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B1-7 grubu; U73122 (10 μM) varlığında FE (10^{-7} M) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B2 Grubu; 40mM KCI ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas halkaları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının gevşetici etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B2-1 grubu; KCI (40 mM) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B2-2 grubu; TEA (1mM) varlığında KCI (40 mM) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B2-3 grubu; Glibenclamide (10μM) varlığında KCI (40 mM) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B2-4 grubu; 4-Aminopyridine (1mM) varlığında KCI (40 mM) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B2-5 grubu; Nifedipine (10^{-4}M) varlığında KCI (40 mM) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B2-6 grubu; SKF96365(10μM) varlığında KCI (40 mM) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

B2-7 grubu; U73122 (10μM) varlığında KCI (40 mM) ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliğinin araştırıldığı grubu tanımlamaktadır.

Tablo 3.4. Çalışmada oluşturulan deney grupları.

Endotelli Grup (A Grubu)	
FE Grubu (A1 Grubu)	KCI Grubu (A2 grubu)
FE+4-HAP (A1-1 grubu)	KCI+4-HAP (A2-1 grubu)
L-NAME+FE+4-HAP (A1-2 grubu)	L-NAME+KCI4-HAP (A2-2 grubu)
Atropin+FE+4-HAP (A1-3 grubu)	Atropin+KCI+4-HAP (A2-3 grubu)
Propranalol+FE+4-HAP (A1-4 grubu)	Propranalol+KCI+4-HAP (A2-4 grubu)
İndomethacin+FE+4-HAP (A1-5 grubu)	İndomethacin+KCI+4-HAP (A2-5 grubu)
ODQ+FE+4-HAP (A1-6 grubu)	ODQ+KCI+4-HAP (A2-6 grubu)
SQ22.536+FE+4-HAP (A1-7 grubu)	SQ22.536+KCI+4-HAP (A2-7 grubu)
Endotelsiz Grup (B Grubu)	
FE Grubu (B1 Grubu)	KCI Grubu (B2 Grubu)
FE+4-HAP (B1-1 grubu)	KCI+4-HAP (B2-1 grubu)
TEA+FE+4-HAP (B1-2 grubu)	TEA+KCI+4-HAP (B2-2 grubu)
4-aminopyridine+FE+4-HAP (B1-3 grubu)	4-aminopyridine+KCI+4-HAP (B2-3 grubu)
Nifedipin+FE+4-HAP (B1-4 grubu)	Nifedipin+KCI+4-HAP (B2-4 grubu)
Glibenclamide+FE+4-HAP (B1-5 grubu)	Glibenclamide+KCI+4-HAP (B2-5 grubu)
SKF96365+FE+4-HAP (B1-6 grubu)	SKF96365+KCI+4-HAP (B2-6 grubu)
U73122+FE+4-HAP (B1-7 grubu)	U73122+KCI+4-HAP (B2-7 grubu)

3.6. İstatiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen verilerin istatiksel analizleri SPSS20 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde One Way ANOVA'da Tukey testi uygulandı. Değerler, ortalama (X) ± Standart sapma (SD) olarak verildi. $P<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

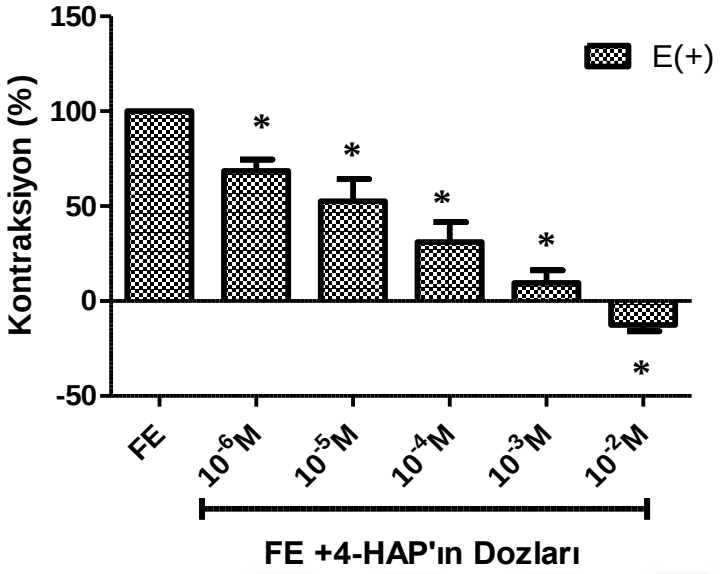
4. BULGULAR

Çalışmamızda endotelli ve endotelsiz torasik aort olmak üzere iki ana grup ve her ana grup içerisinde FE ve KCl ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonlar üzerine farklı antagonistlerin varlığında 4-HAP'ın etkilerinin incelendiği yedi adet alt grup bulunmaktadır. Gruplardan elde edilen bulgular aşağıda ifade edilmiştir.

Endotelli Grupta (A Grubu); Çalışmada deney hayvanlarından elde edilen aort düz kas halkalarının endotelli katmanına kaldırılmadan FE ve KCI ile indüklendi. Bu agonistlerle uyarılan dokulardan maksimum kasılma cevabı alındıktan sonra 4-HAP'ın çeşitli dozları banyo ortamına uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Daha sonra çeşitli antagonistler banyo ortamına uygulanıp 20 dk maruziyet sağlandıktan sonra FE veya KCI ile indüklendi. Dokular maximum kasılım seviyesine ulaşınca 4-HAP'ın dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Elde edilen değerler kontrolle kıyaslanarak değerlendirildi.

FE grubunda (A1 grubu); FE'nin 10^{-7}M dozu ile indüklenmiş endotelli aort düz kas halkalarının maksimum kasılma cevapları elde edilmiştir. Gram cinsinden elde edilen kasılma cevaplarının ortalaması alınarak bu değer %100 kabul edilip çeşitli antagonist banyo ortamında varlığında ve yokluğunda aort dokularının 4-HAP'a verdiği gevşeme yanıtlarının yüzdesi hesaplandı.

FE + 4-HAP grubunda (A1-1 grubu); Bu grupta 10^{-7}M FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır. 4-HAP'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonlarını sırasıyla; % 31.48±14.88, % 47.37±28.60, % 68.86±25.44, % 90.45±16.36 ve % 112.61±7.93 oranında gevşettiği belirlendi ($p<0.05$, $n=6$).



Şekil 4. 1. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli [E (+)] aort düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.005$,n=6).

L-NAME + FE + 4-HAP grubunda (A1-2 grubu); Bu çalışmada banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulandı. Aort düz kasından maksimum kontraksiyon elde edildi ve 4- HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak aort düz kasının gevşeme yanıtları belirlendi. Daha sonra 10μM L-NAME banyo ortamına uygulandı 20 dk maruziyet sonrası FE (10^{-7}M) ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırıldı.

FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını ortamda L-NAME yokken; 4-HAP'ın 10^{-6} M dozu % 33.08±8.19 oranında gevşettiği belirlendi. Bununla birlikte 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda L-NAME varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını % 4.94±1.88 gevşettiği belirlendi. Banyoda L-NAME varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun oluşturduğu gevşetici etkiler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p<0.05$, n=6).

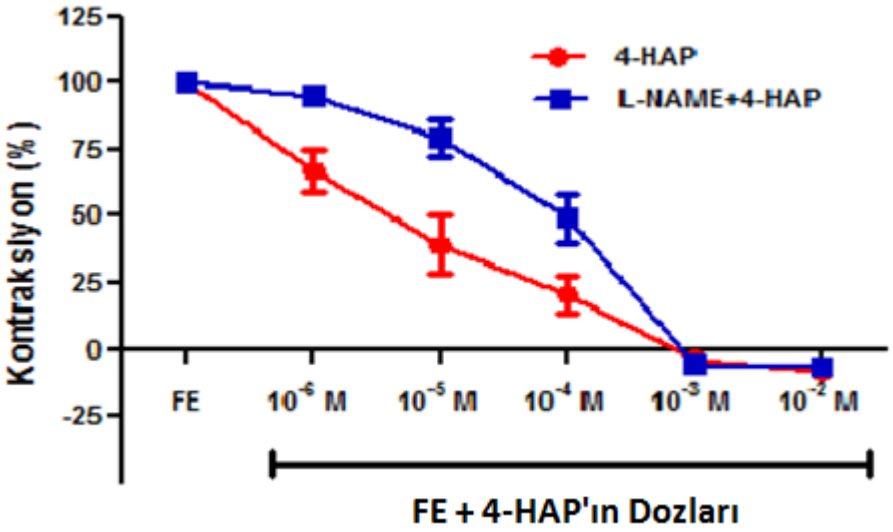
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda L-NAME yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %60.61±10.65 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun L-NAME varlığında ise FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %17.85±7.71 gevşettiği belirlendi. Banyoda L-NAME varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ($p<0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda L-NAME yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %79.56±6.88 oranında gevşettiği görüldü. 4-HAP'ın aynı dozunun L-NAME varlığında ise FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %45.24±10.96 gevşettiği belirlendi. Banyoda L-NAME varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ($p<0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda L-NAME yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %104.34±1.24 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun L-NAME varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %105.73±1.76 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda L-NAME varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda L-NAME yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %108.14±2.63oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun L-NAME varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %105.18±3.04 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda L-NAME

varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6). Bu gruba ait yüzde gevşeme değerleri Şekil 4.2 ve Tablo 4.1 de gösterilmiştir.



Şekil 4. 2. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının L-NAME varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.1. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının L-NAME varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
FE+10^{-6} M 4-HAP	33.08±8.19	**P<0.05**
L-NAME+FE+10^{-6} M 4-HAP	4.94±1.88	
FE+10^{-5} M 4-HAP	60.61±10.65	**P<0.05**
L-NAME+FE+10^{-5} M 4-HAP	17.85±7.71	
FE+10^{-4} M 4-HAP	79.56±6.88	**P<0.05**
L-NAME+FE+10^{-4} M 4-HAP	45.24±10.96	
FE+10^{-3} M 4-HAP	104.34±1.24	**P>0.05**
L-NAME+FE+10^{-3} M 4-HAP	]105.73±1.76	
FE+10^{-2} M 4-HAP	108.14±2.63	**P>0.05**
L-NAME+FE+10^{-2} M 4-HAP	105.18±3.04	

İndomethacin + FE + 4-HAP grubunda (A1-3 grubu); Bu çalışmada banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanıp aort düz kasının maksimum kasılma değeri belirlendi ve 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Daha sonra banyo ortamına 10 µM indomethacin uygulanarak 20 dk maruziyet sağlandıktan sonra FE (10^{-7}M) ile indüklanmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda indomethacin yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %27.84±9.37 oranında gevşettiği belirlendi. Fakat 4-HAP'ın aynı dozunun indomethacin varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %16.21±4.71 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda indomethacin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

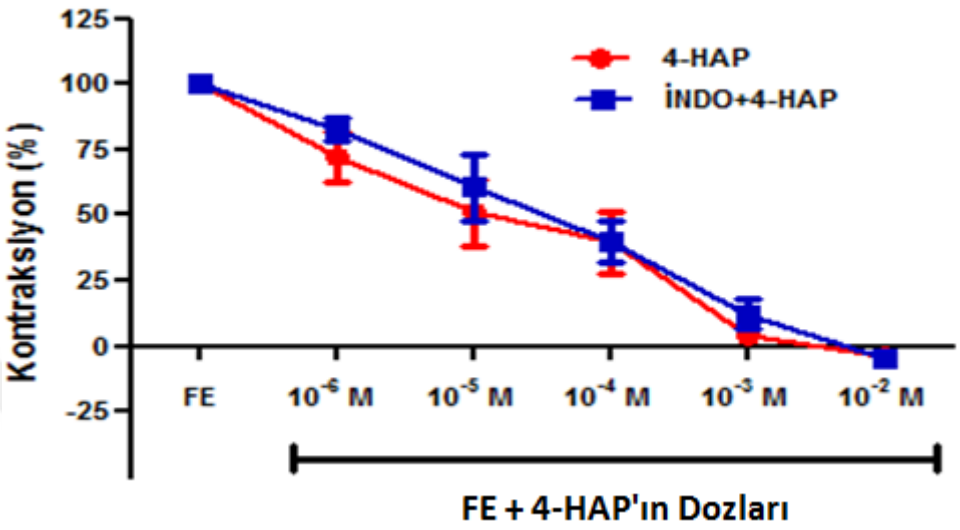
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda indomethacin yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %49.20±12.71oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun indomethacin varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %35.27±12.41 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda indomethacin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda indomethacin yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %60.6±12.03 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun indomethacin varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %53.24±12.31 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda indomethacin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda indomethacin yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %95.75±1.33 oranında gevşettiği gözlemlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun indomethacin varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %94.65±5.39 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda indomethacin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda indomethacin yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %104.07±1.61 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun indomethacin varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %104.84±1.95 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda

indomethacin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4. 3. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının indomethacin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4. 2. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının indomethacin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
FE+10^{-6} M 4-HAP	27.84±9.37	
İndomethacin+FE+10^{-6} M 4-HAP	16.21±4.71	**P>0.05**
FE+10^{-5} M 4-HAP	49.20±12.71	
İndomethacin +FE+10^{-5} M 4-HAP	35.27±12.41	**P>0.05**
FE+10^{-4} M 4-HAP	60.6±12.03	
İndomethacin +FE+10^{-4} M 4-HAP	53.24±12.31	**P>0.05**
FE+10^{-3} M 4-HAP	95.75±1.33	
İndomethacin +FE+10^{-3} M 4-HAP	94.65±5.39	**P>0.05**
FE+10^{-2} M 4-HAP	104.07±1.61	
İndomethacin +FE+10^{-2} M 4-HAP	104.84±1.95	**P>0.05**

Propranolol + FE + 4-HAP grubunda (A1-4 grubu); Bu çalışmada banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanarak maksimum aort düz kas kontraksiyonu elde edildi ve 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Ardından banyo ortamına 1 μM propranolol uygulanarak 20 dk maruziyet sonrası FE (10^{-7}M) ile indüklanmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda propranolol yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %42.75±8.21 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozu ise propranalol varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %43.98±10.21 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda propranolol varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

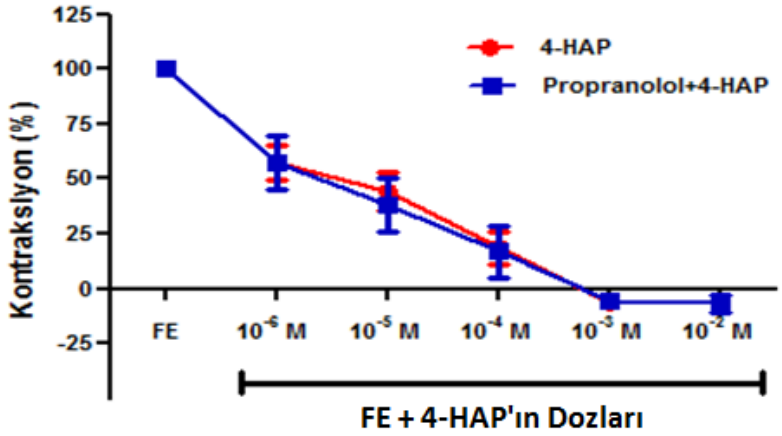
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda propranolol yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %55.73±9.49 oranında gevşetti. Yine 4-HAP'ın aynı dozunun propranalol varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %64.61±11.08 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda propranolol varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda propranolol yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %81.6±8.30 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun propranalol varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %85.64±9.94 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda propranolol varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda propranolol yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %106.84±1.84 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun propranalol varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %106.12±2.39 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda propranolol varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda propranolol yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %106.16±3.18 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun propranalol varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %108.01±3.47 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda propranolol

varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi (p>0.05, n=6).



Şekil 4.4. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının propranolol varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi (p<0.05, n=6).

Tablo 4.3. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının propranolol varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi (p<0.05, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
FE+10^{-6} M 4-HAP	42.75±8.21	
Propranolol+FE+10^{-6} M 4-HAP	43.98±10.21	**P>0.05**
FE+10^{-5} M 4-HAP	55.73±9.49	
Propranolol +FE+10^{-5} M 4-HAP	64.61±11.08	**P>0.05**
FE+10^{-4} M 4-HAP	81.6±8.30	
Propranolol +FE+10^{-4} M 4-HAP	85.64±9.94	**P>0.05**
FE+10^{-3} M 4-HAP	106.84±1.84	
Propranolol +FE+10^{-3} M 4-HAP	106.12±2.39	**P>0.05**
FE+10^{-2} M 4-HAP	106.16±3.18	
Propranolol +FE+10^{-2} M 4-HAP	108.01±3.47	**P>0.05**

Atropin + FE + 4-HAP grubunda (A1-5 grubu); Bu çalışmada banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanıp aort düz kas kontraksiyonunun maksimum değeri elde edildi. Daha sonra 4- HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları belirlendi ve ardından banyo ortamına 1μM atropin uygulanıp 20 dk maruziyet sonrası FE (10^{-7}M) ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda atropin yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %29.66±5.47 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun atropin varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %43.14±9.7 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda atropin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

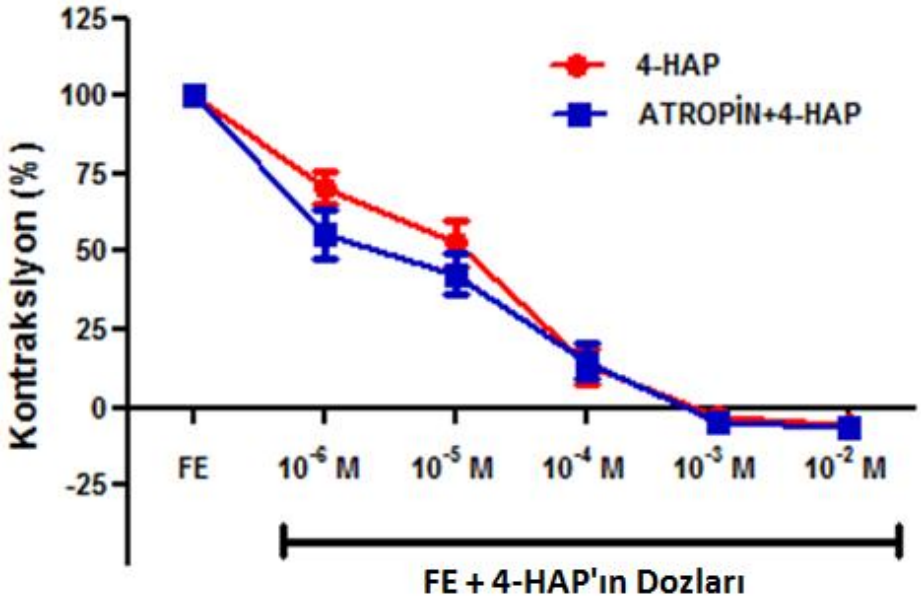
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda atropin yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %47.21±7.39 oranında gevşetti. Ve 4-HAP'ın aynı dozunun atropin varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %59.61±7.26 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda atropin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda atropin yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %86.62±5.88 oranında gevşettiği görüldü. Yine 4-HAP'ın aynı dozunun atropin varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %85.24±5.00 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda atropin

varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlenmiştir ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda atropin yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %103.10±1.54 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun atropin varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %105.26±1.55 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda atropin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda atropin yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %105.77±0.96 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun atropin varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %106.28±1.67 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda atropin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.5. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının atropin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.4. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının atropin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
FE+10^{-6} M 4-HAP	29.66±5.47	
Atropin+FE+10^{-6} M 4-HAP	43.14±9.7	**P>0.05**
FE+10^{-5} M 4-HAP	47.21±7.39	
Atropin +FE+10^{-5} M 4-HAP	59.61±7.26	**P>0.05**
FE+10^{-4} M 4-HAP	86.62±5.88	
Atropin +FE+10^{-4} M 4-HAP	85.24±5.00	**P>0.05**
FE+10^{-3} M 4-HAP	103.10±1.54	
Atropin +FE+10^{-3} M 4-HAP	105.26±1.55	**P>0.05**
FE+10^{-2} M 4-HAP	105.77±0.96	
Atropin +FE+10^{-2} M 4-HAP	106.28±1.67	**P>0.05**

ODQ + FE + 4-HAP grubunda (A1-6 grubu); Bu çalışmada banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanıp aort düz kasından maksimum kontraksiyon değeri elde edildi ve 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları belirlendi. Daha sonra banyo ortamına 1 µM ODQ (1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one) uygulanarak 20 dk maruziyetin ardından FE (10^{-7}M) ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırıldı.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda ODQ yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %37.3±9.74 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ODQ varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %33.18±10.20 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda ODQ varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

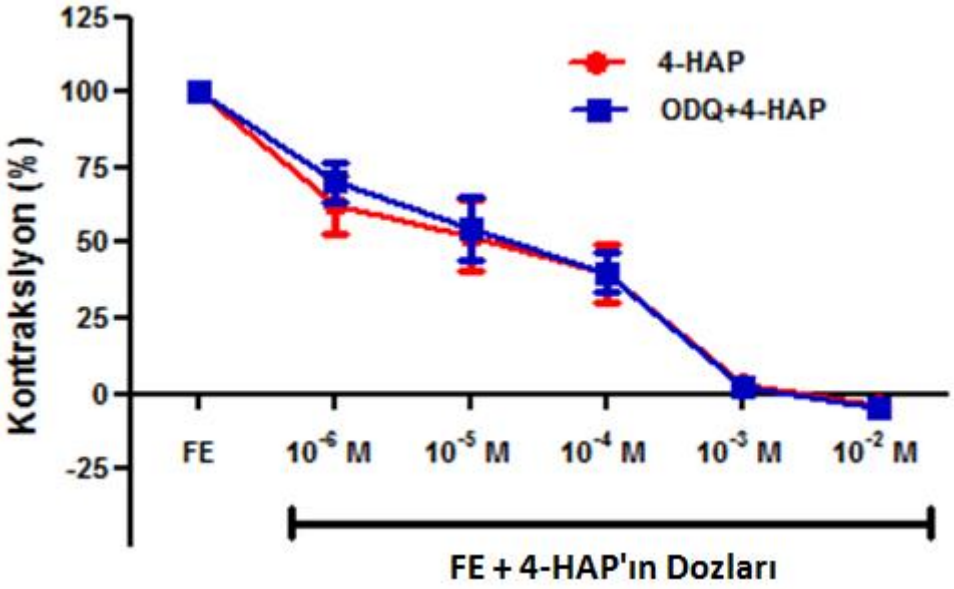
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda ODQ yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %47.53±11,83 oranında gevşettiği görüldü. 4-HAP'ın aynı dozununda ODQ varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %48.25±11.06 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda ODQ varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda ODQ yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %60.49±9.63 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ODQ varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %64.88±10.68 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda ODQ

varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda ODQ yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %96.54±0.62 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ODQ varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %96.86±1.49 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda ODQ varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ortaya konuldu ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda ODQ yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %103.72±1.79 oarnında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ODQ varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %104.24±1.99 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda ODQ varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.6. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının ODQ varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.5. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının ODQ varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
FE+10^{-6} M 4-HAP	37.3±9.74	
ODQ +FE+10^{-6} M 4-HAP	33.18±10.20	**P>0.05**
FE+10^{-5} M 4-HAP	47.53±11,83	
ODQ +FE+10^{-5} M 4-HAP	48.25±11.06	**P>0.05**
FE+10^{-4} M 4-HAP	60.49±9.63	
ODQ +FE+10^{-4} M 4-HAP	64.88±10.68	**P>0.05**
FE+10^{-3} M 4-HAP	96.54±0.62	
ODQ +FE+10^{-3} M 4-HAP	96.86±1.49	**P>0.05**
FE+10^{-2} M 4-HAP	103.72±1.79	
ODQ +FE+10^{-2} M 4-HAP	104.24±1.99	**P>0.05**

SQ 22.536 + FE + 4-HAP grubunda (A1-7 grubu); Bu çalışmada banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanıp aort düz kas kontraksiyonu maksimum değere ulaşınca 4-

HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları belirlendi. Daha sonra banyo ortamına 100 μM SQ 22.536 uygulanarak 20 dk maruziyet sağlandı ve FE (10^{-7}M) ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırıldı.

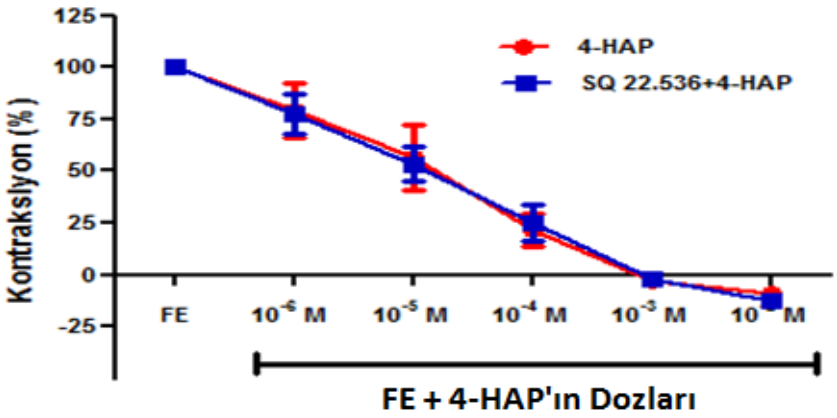
4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda SQ 22.536 yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %19.82±11.46 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun SQ 22.536 varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %20.82±8.51 gevşettiği görüldü. Sonuç olarak banyoda SQ 22.536 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda SQ 22.536 yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %41.02±13.89 oranında gevşettiği görüldü. 4-HAP'ın aynı dozunun ise SQ 22.536 varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %46.62±10.29 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SQ 22.536 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı anlaşıldı ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda SQ 22.536 yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %78.61±7.02 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise SQ 22.536 varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %72.29±8.55 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda SQ 22.536 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda SQ 22.536 yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %102.81±0.96 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun SQ 22.536 varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %102.43±1.37 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SQ 22.536 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda SQ 22.536 yokken FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %109.23±0.99 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun SQ 22.536 varlığında FE ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraskiyonlarını %111.43±3.23 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SQ 22.536 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.7. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının SQ 22.536 varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

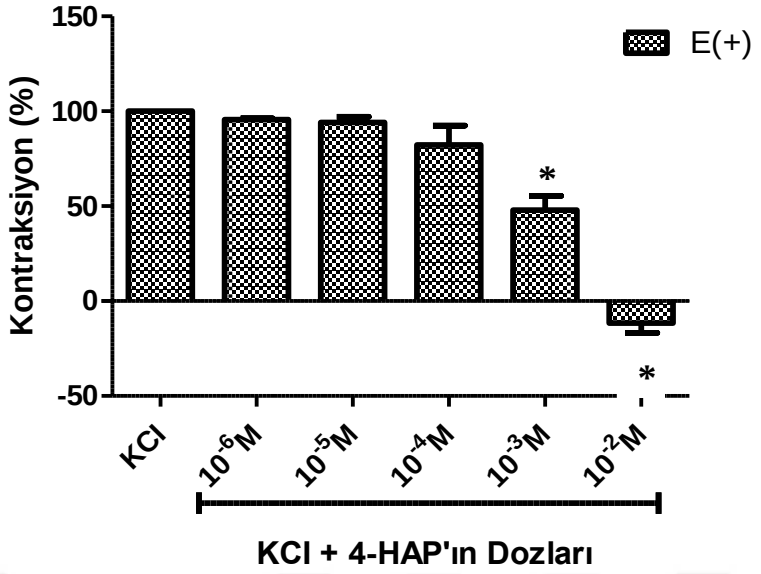
Tablo 4.6. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının SQ 22.536 varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
FE+10^{-6} M 4-HAP	19.82±11.46	
SQ 22.536+FE+10^{-6} M 4-HAP	20.82±8.51	**P>0.05**
FE+10^{-5} M 4-HAP	41.02±13.89	
SQ 22.536 +FE+10^{-5} M 4-HAP	46.62±10.29	**P>0.05**
FE+10^{-4} M 4-HAP	78.61±7.02	
SQ 22.536 +FE+10^{-4} M 4-HAP	72.29±8.55	**P>0.05**
FE+10^{-3} M 4-HAP	102.81±0.96	
SQ 22.536 +FE+10^{-3} M 4-HAP	102.43±1.37	**P>0.05**
FE+10^{-2} M 4-HAP	109.23±0.99	
SQ 22.536 +FE+10^{-2} M 4-HAP	111.43±3.23	**P>0.05**

KCI Grubunda (A2 Grubu); KCI'nin 40mM dozu ile indüklenmiş endotelli aort düz kas halkalarının maksimum kasılma cevapları elde edilmiştir. Gram cinsinden elde edilen kasılma cevaplarının ortalaması alınarak bu değer %100 kabul edilip çeşitli antagonist banyo ortamında varlığında ve yokluğunda aort dokularının 4-HAP'a verdiği gevşeme yanıtlarının yüzdesi hesaplandı.

KCI + 4-HAP grubunda (A2-1 grubu); Bu grupta 40 mM KCI ile indüklenen in vitro endotelli rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları KCI ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını sırasıyla; % 4.47±1.56, %5.90±6.73, % 17.8±22.86 ($p>0.05$; n=6), %52.01±16.65 ve %111.60±11.44 ($p<0.05$, n=6) oranında gevşettiği belirlendi.



Şekil 4.8. 40mM KCl ile indüklenen in vitro rat endotelli (E(+)) aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının etkisi. 4-HAP'ın yüksek dozları olan 10^{-3} ve 10^{-2} M'ün gevşetici etkinliğinin istatiksel önem arz ettiği ($p<0.05$, n=6). Ancak diğer dozların gevşetici etkinliğinin istatiksel öneme sahip olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$,n=6).

L-NAME + KCl + 4-HAP grubunda (A2-2 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 40mM KCl uygulanıp aort düz kasının maksimum kontraksiyon değeri belirlendi. Daha sonra 4- HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamına 10 µM L-NAME uygulanıp 20 dk maruziyet sağlandıktan sonra KCl (40mM) ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırıldı.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun banyo ortamında L-NAME yokken KCl ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %3.52±1.17 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozun ise L-NAME varlığında KCl ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %3.39±1.57 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda L-NAME varlığında ve yokluğunda KCl ile indüklenen torasik aort düz kas

kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

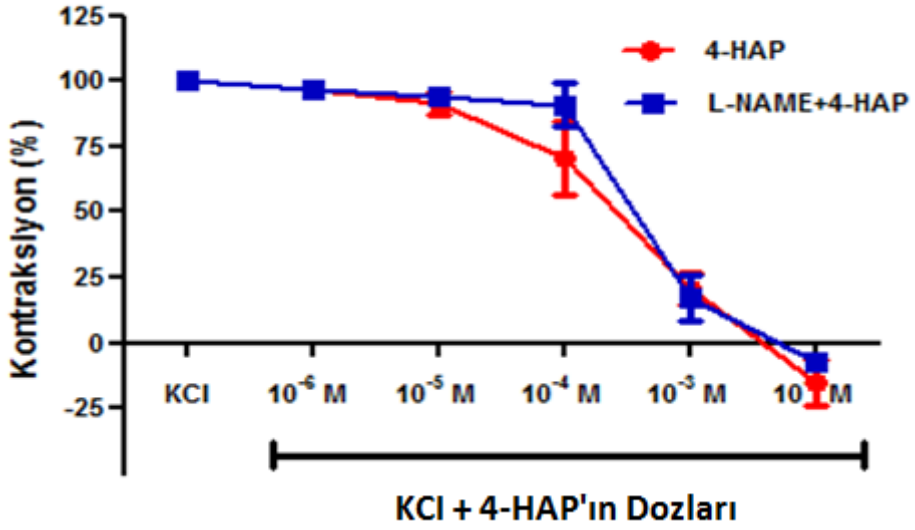
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda L-NAME yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %8.29±3.94 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozun ise L-NAME varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %6.35±2.76 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda L-NAME varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda L-NAME yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %27.39±13.96 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozun ise L-NAME varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %10.87±7.97 oranında gevşetti. Banyoda L-NAME varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6)

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda L-NAME yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %78.15±6.79 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozun ise L-NAME varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %80.11±9.91 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda L-NAME varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda L-NAME yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %114.49±7.98 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın

aynı dozun L-NAME varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %107.54±1.54 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda L-NAME varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.9. 40 mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının L-NAME varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.7. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının L-NAME varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
KCI+10^{-6} M 4-HAP	3.52±1.17	
L-NAME+KCI+10^{-6} M 4-HAP	3.39±1.57	**P>0.05**
KCI+10^{-5} M 4-HAP	8.29±3.94	
L-NAME +KCI+10^{-5} M 4-HAP	6.35±2.76	**P>0.05**
KCI+10^{-4} M 4-HAP	27.39±13.96	
L-NAME +KCI+10^{-4} M 4-HAP	10.87±7.97	**P>0.05**
KCI+10^{-3} M 4-HAP	78.15±6.79	
L-NAME +KCI+10^{-3} M 4-HAP	80.11±9.91	**P>0.05**
KCI+10^{-2} M 4-HAP	114.49±7.98	
L-NAME +KCI+10^{-2} M 4-HAP	107.54±1.54	**P>0.05**

İndomethacin + KCI + 4-HAP grubunda (A2-3 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 40mM KCI uygulanıp aort düz kasının maksimum kotraksiyon değeri belirlendi. 4- HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamına 10 μM indomethacin uygulanarak 20 dk maruziyet sonrası KCI (40mM) ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırıldı.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda indomethacin yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %6.55±2.75 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun indomethacin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %9.00±4.01 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda indomethacin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

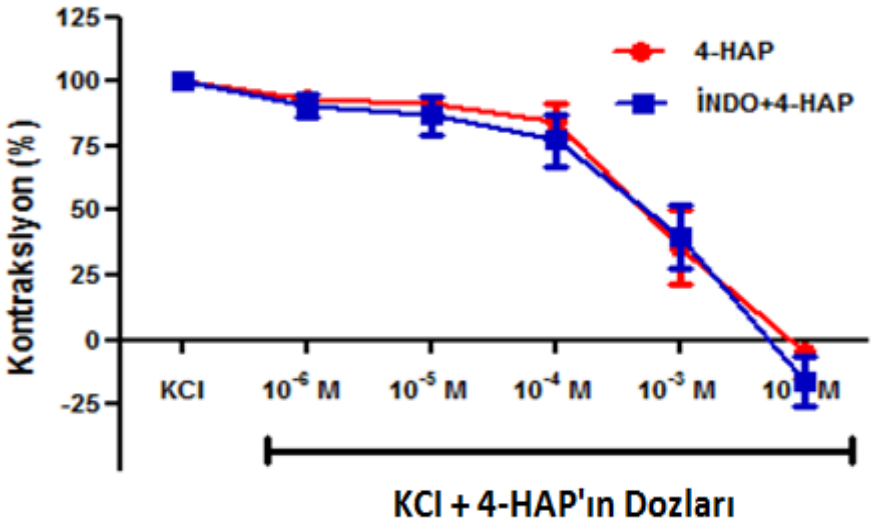
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda indomethacin yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %8.65±3.33 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun indomethacin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %12.31±6.11oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda indomethacin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda indomethacin yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %15.54±6.76 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun indomethacin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %21.23±8.44 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda indomethacin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı anlaşıldı ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda indomethacin yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %64.26±14.27 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun indomethacin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %61.20±10.30 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda indomethacin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda indomethacin yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %105.03±1.68 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun indomethacin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %113.78±8.72 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda

indomethacin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı anlaşıldı ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.10. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının indomethacin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.8. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının indomethacin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	P Değeri
KCI+10^{-6} M 4-HAP	6.55±2.75	
İndomethacin +KCI +10^{-6} M 4-HAP	9.00±4.01	**P>0.05**
KCI+10^{-5} M 4-HAP	8.65±3.33	
İndomethacin +KCI+10^{-5} M 4-HAP	12.31±6.11	**P>0.05**
KCI+10^{-4} M 4-HAP	15.54±6.76	
İndomethacin +KCI+10^{-4} M 4-HAP	21.23±8.44	**P>0.05**
KCI+10^{-3} M 4-HAP	64.26±14.27	
İndomethacin +KCI+10^{-3} M 4-HAP	61.20±10.30	**P>0.05**
KCI+10^{-2} M 4-HAP	105.03±1.68	
İndomethacin +KCI+10^{-2} M 4-HAP	113.78±8.72	**P>0.05**

Propranolol + KCI + 4-HAP grubunda (A2-4 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 40mM KCI uygulanıp aort düz kas kontraksiyonunun maksimum cevabı belirlendi. Daha sonra 4- HAP'ın kümülatif dozları banyo ortamına uygulanarak dokunun gevşeme yanıtları elde edildi. Ardından banyo ortamına 1 µM propranolol uygulanarak 20 dk maruzuiyet sağlandı ve KCI (10mM) ile indüklenmiş rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği belirlendi.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda propranolol yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %3.76±1.49 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun propranolol varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %2.81±1.79 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda propranolol varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları

üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

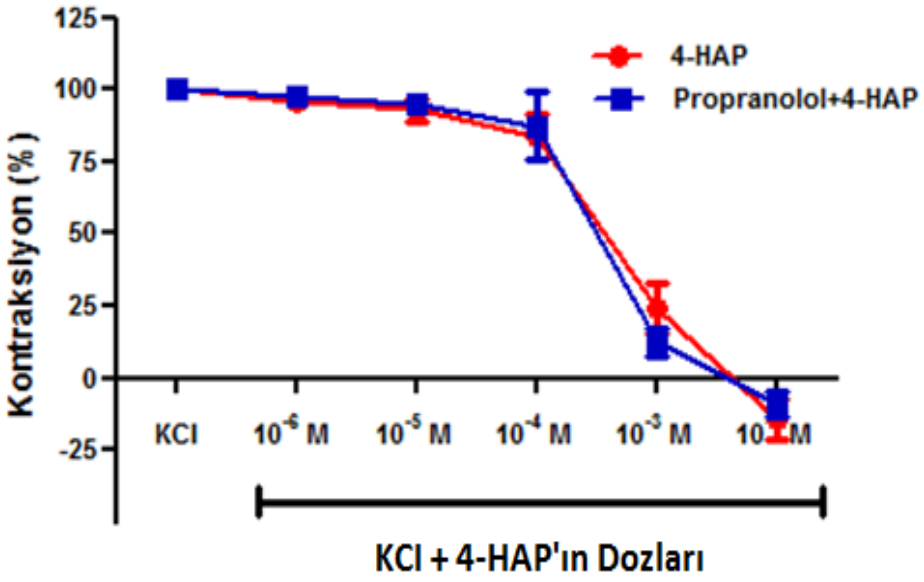
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda propranolol yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %7.12±3.96 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun propranolol varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %5.39±2.70 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda propranolol varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda propranolol yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %16.21±7.81 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun propranolol varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %15.92±10.30 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda propranolol varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda propranolol yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %75.96±9.01 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun propranolol varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %87.84±3.80 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda propranolol varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda propranolol yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %114.49±6.77 oranında gevşettiği, 4-

HAP'ın aynı dozun propranolol varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %108.70±3.53 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda propranolol varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.11. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının propranolol varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.9. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının propranolol varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	P Değeri
KCI+10^{-6} M 4-HAP	3.76±1.49	
Propranolol +KCI+10^{-6} M 4-HAP	2.81±1.79	**P>0.05**
KCI+10^{-5} M 4-HAP	7.12±3.96	
Propranolol +KCI+10^{-5} M 4-HAP	5.39±2.70	**P>0.05**
KCI+10^{-4} M 4-HAP	16.21±7.81	
Propranolol +KCI+10^{-4} M 4-HAP	15.92±10.30	**P>0.05**
KCI+10^{-3} M 4-HAP	75.96±9.01	
Propranolol +KCI+10^{-3} M 4-HAP	87.84±3.80	**P>0.05**
KCI+10^{-2} M 4-HAP	114.49±6.77	
Propranolol +KCI+10^{-2} M 4-HAP	108.70±3.53	**P>0.05**

Atropin + KCI + 4-HAP grubunda (A2-5 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 40mM KCI uygulanıp aort düz kas kontraksiyonu maksimum değeri elde edildi. 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları belirlendi. Daha sonra banyo ortamına 1 μM atropin uygulandı ve 20 dk maruziyet sonrası dokular KCI (40mM) ile indüklenmiş in vitro aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırıldı.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda atropin yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %3.04±1.37 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun atropin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %7.31±2.78 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda atropin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

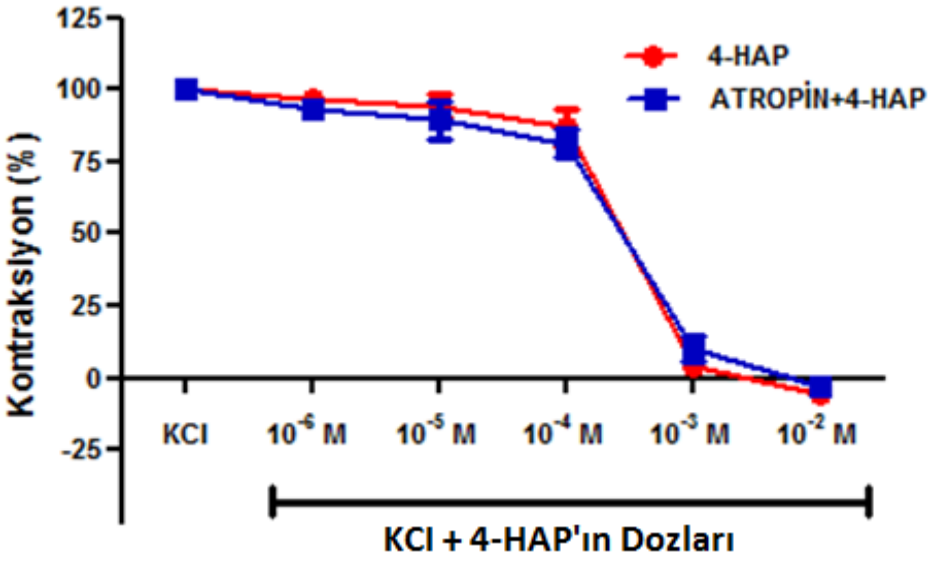
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda atropin yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %5.5±3.34 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun atropin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %9.34±5.68 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda atropin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda atropin yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %13.66±5.87 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun atropin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %20.25±9.33 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda atropin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda atropin yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %96.35±1.64 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun atropin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %89.37±6.00 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda atropin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda atropin yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %105.62±1.68 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun atropin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %103.37±4.99 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda atropin

varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi (p>0.05, n=6).



Şekil 4.12. 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının atropin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi (p<0.05, n=6).

Tablo 4.10. 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının atropin varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi (p<0.05, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
KCI+10^{-6} M 4-HAP	3.04±1.37	
Atropin +KCI +10^{-6} M 4-HAP	7.31±2.78	**P>0.05**
KCI+10^{-5} M 4-HAP	5.5±9.34	
Atropin +KCI +10^{-5} M 4-HAP	9.34±5.68	**P>0.05**
KCI+10^{-4} M 4-HAP	13.66±5.87	
Atropin +KCI +10^{-4} M 4-HAP	20.25±9.33	**P>0.05**
KCI+10^{-3} M 4-HAP	96.35±1.64	
Atropin +KCI +10^{-3} M 4-HAP	89.37±6.00	**P>0.05**
KCI+10^{-2} M 4-HAP	105.62±1.68	
Atropin +KCI +10^{-2} M 4-HAP	103.37±4.99	**P>0.05**

ODQ + KCI + 4-HAP grubunda (A2-6 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 40mM KCI uygulanıp aort düz kas kontraksiyonunun maksimum değeri belirlendi. 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Ve ardından banyo ortamına 1µM ODQ (1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one) uygulanarak 20 dk maruziyet sonrası KCI (40mM) ile indüklenmiş aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda ODQ yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %2.31±1.34 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun ODQ varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %3.5±1.49 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda ODQ varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

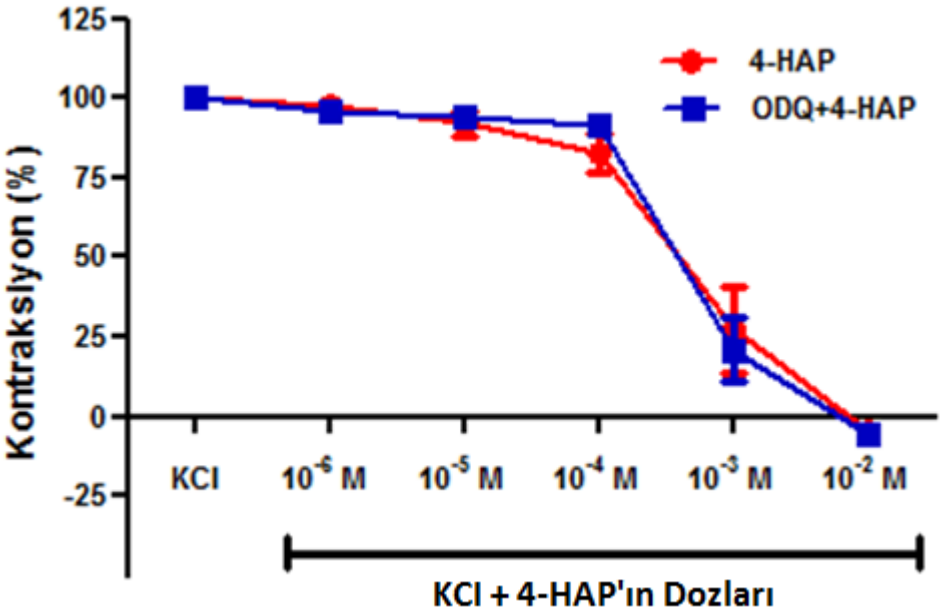
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda ODQ yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %8.10±4.12 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun ODQ varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını % 5.44±1.99 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda ODQ varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda ODQ yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %17.32±6.43 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun ODQ varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %8.09±2.98 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda ODQ varlığında

ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda ODQ yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %72.5±13.57 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun ODQ varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %78.48±9.70 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda ODQ varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda ODQ yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %105.06±1.76 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozun ODQ varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %105.34±1.91 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda ODQ varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.13. 40mM KCl ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının ODQ varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, $n=6$).

Tablo 4.11. 40mM KCl ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının ODQ varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, $n=6$).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
KCl+10^{-6} M 4-HAP	2.31±1.34	
ODQ +KCl +10^{-6} M 4-HAP	3.5±1.49	**P>0.05**
KCl+10^{-5} M 4-HAP	8.10±4.12	
ODQ +KCl +10^{-5} M 4-HAP	5.44±1.99	**P>0.05**
KCl+10^{-4} M 4-HAP	17.32±6.43	
ODQ +KCl +10^{-4} M 4-HAP	8.09±2.98	**P>0.05**
KCl+10^{-3} M 4-HAP	72.5±13.57	
ODQ +KCl +10^{-3} M 4-HAP	78.48±9.70	**P>0.05**
KCl+10^{-2} M 4-HAP	105.06±1.76	
ODQ+KCl +10^{-2} M 4-HAP	105.34±1.91	**P>0.05**

SQ 22.536 + KCI + 4-HAP grubunda (A2-7 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 40mM KCI uygulanıp aort düz kas kontraksiyonunun maksimum değeri belirlendi. 4- HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Daha sonra banyo ortamına 100 µM SQ 22.536 uygulanıp 20 dk maruziyet sağlandıktan sonrası KCI (40mM) ile indüklenmiş rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırıldı.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda SQ 22.536 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %5.42±2.03 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozun ise SQ 22.536 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %5.56±2.90 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SQ 22.536 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

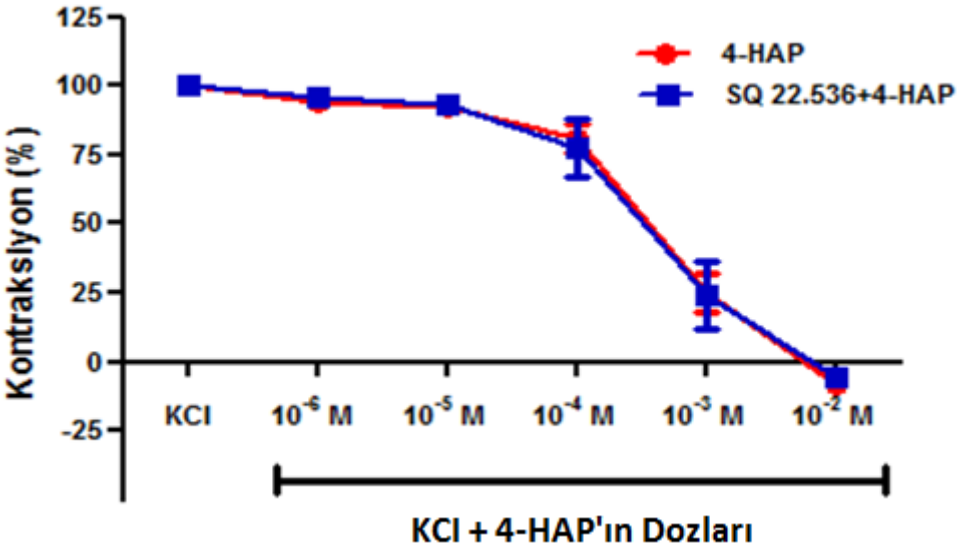
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun banyo ortamında SQ 22.536 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %7.61±2.92 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı ise dozun SQ 22.536 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %8.45±3.96 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda SQ 22.536 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun banyo ortamında SQ 22.536 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %18.06±5.01 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise SQ 22.536 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %28.56±11.79 gevşettiği belirlendi. Banyoda SQ 22.536 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları

üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun banyo ortamında SQ 22.536 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını % 74.26±6.85 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise SQ 22.536 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %77.02±9.73 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SQ 22.536 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda SQ 22.536 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %108.01±2.66 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun SQ 22.536 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %105.49±2.18 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SQ 22.536 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.14. 40mM KCl ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının SQ 22.536 varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.12. 40mM KCl ile indüklenen in vitro rat endotelli aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının SQ 22.536 varlığı ve yokluğunda gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
KCl+10^{-6} M 4-HAP	5.42±2.03	
SQ22.536+KCl +10^{-6} M 4-HAP	5.56±2.90	**P>0.05**
KCl+10^{-5} M 4-HAP	7.61±2.92	
SQ22.536+KCl +10^{-5} M 4-HAP	8.45±3.96	**P>0.05**
KCl+10^{-4} M 4-HAP	18.06±5.01	
SQ22.536+KCl +10^{-4} M 4-HAP	28.56±11.79	**P>0.05**
KCl+10^{-3} M 4-HAP	74.26±6.85	
SQ22.536+KCl +10^{-3} M 4-HAP	77.02±9.73	**P>0.05**
KCl+10^{-2} M 4-HAP	108.01±2.66	
SQ22.536KCl +10^{-2} M 4-HAP	105.49±2.18	**P>0.05**

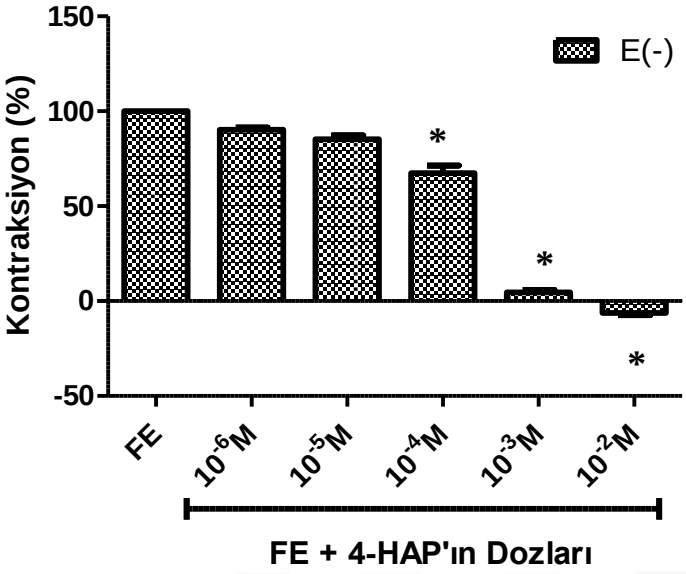
Endotelsiz Grupta (B Grubu); Çalışmada deney hayvanlarından elde edilen aort düz kas halkalarının endotel katmanı kas dokusuna zarar vermeden uzaklaştırılmıştır.

Bu dokular FE ve KCI ile indüklendi. Bu agonistlerle uyarılan dokulardan maksimum kasılma cevabı alındıktan sonra 4-HAP'ın çeşitli dozları banyo ortamına uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Daha sonra çeşitli antagonistler banyo ortamına uygulanıp 20 dk maruziyet sağlandıktan sonra FE veya KCI ile indüklendi. Dokular maximum kasılım seviyesine ulaşınca 4-HAP'ın dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Elde edilen değerler kontrolle kıyaslanarak değerlendirildi.

FE Grubunda (B1 Grubu); FE'nin 10^{-7}M dozu ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas halkalarının maksimum kasılma cevapları elde edilmiştir. Gram cinsinden elde edilen kasılma cevaplarının ortalaması alınarak bu değer %100 kabul edilip çeşitli antagonist banyo ortamında varlığında ve yokluğunda aort dokularının 4-HAP'a verdiği gevşeme yanıtlarının yüzdesi hesaplandı.

FE + 4-HAP grubunda (B1-1 grubu); Bu grupta FE (10^{-7}M) ile idüklenmiş in vitro rat torasik endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları FE ile indüklenen endotelsiz torasik aort düz kas kontraksiyonlarını sırasıyla; %9.71±3.18, %14.70±5.29, %32.64±10.81, %95.35±3.52 ve %106.20±3.27 oranında gevşettiği belirlendi.4-HAP'ın 10^{-6} ve 10^{-5} M dozlarının gevşetici etkinliği istatiksel olarak önem arz etmezken ($p>0.05$, $n=6$), 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozlarının gevşetici etkinliği istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$, $n=6$).



Şekil 4.15. 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz [E (-)] aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

TEA + FE + 4-HAP grubunda (B1-2 grubu); Bu grupta banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu maksimum düzeye ulaşınca 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortanıma 1mM TEA uygulandı ve 20 dk maruziyet sağlandıktan sonra FE (10^{-7}M) ile indüklenmiş in vitro rat endotelsiz torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda TEA yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %9.59±3.97 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda TEA varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %8.46±3.65 gevşettiği belirlendi. Banyoda TEA varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

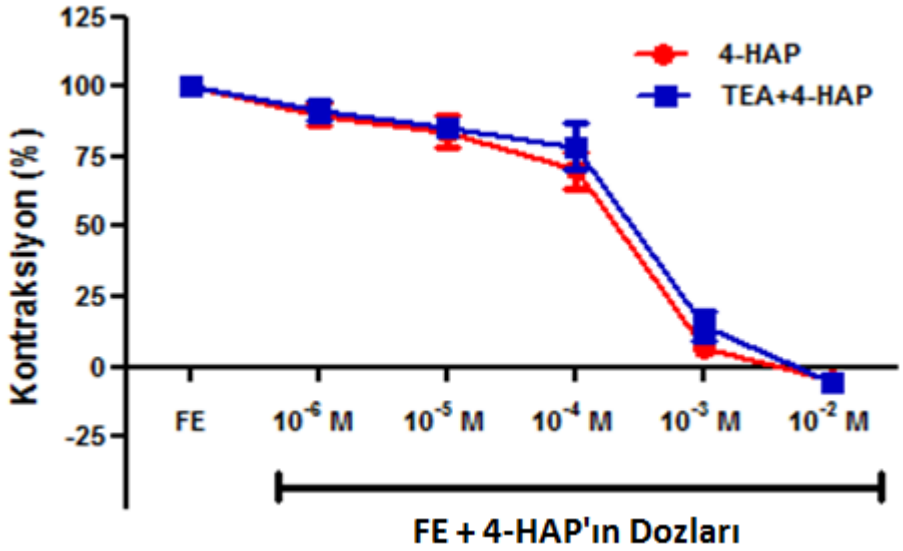
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda TEA yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %15.46±5.53 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda TEA varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %14.88±5.83 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda TEA varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda TEA yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %30.25±7.10 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda TEA varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %24.02±10.81 oranında gevşettiği gözlemlendi. Banyoda TEA varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda TEA yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %94.01±3.42 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda TEA varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %87.47±4.70 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda TEA varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda TEA yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %105.37±1.79 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda TEA varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %106.02±2.90 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda TEA

varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi (p>0.05, n=6).



Şekil 4.16. TEA varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi (p<0.05, n=6).

Tablo 4.13. TEA varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi (p<0.05, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
FE+10^{-6} M 4-HAP	9.59±3.97	
TEA+FE +10^{-6} M 4-HAP	8.46±3.65	**P>0.05**
FE+10^{-5} M 4-HAP	15.46±5.53	
TEA+FE +10^{-5} M 4-HAP	14.88±5.83	**P>0.05**
FE+10^{-4} M 4-HAP	30.25±7.10	
TEA+FE +10^{-4} M 4-HAP	24.02±10.81	**P>0.05**
FE+10^{-3} M 4-HAP	94.01±3.42	
TEA+FE +10^{-3} M 4-HAP	87.47±4.70	**P>0.05**
FE+10^{-2} M 4-HAP	105.37±1.79	
TEA+FE +10^{-2} M 4-HAP	106.02±2.90	**P>0.05**

Glibenclamide + FE + 4-HAP grubunda (B1-3 grubu); Bu grupta banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu maksimum değeri elde edildi. 4- HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamına 10 μM glibenclamide uygulanarak 20 dk maruziyet sağlandı. Daha sonra FE (10^{-7}M) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aort düz kas kontraksiyonnları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda glibenclamide yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %11.31±5.63 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda glibenclamide varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %7.53±3.84 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda glibenclamide varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

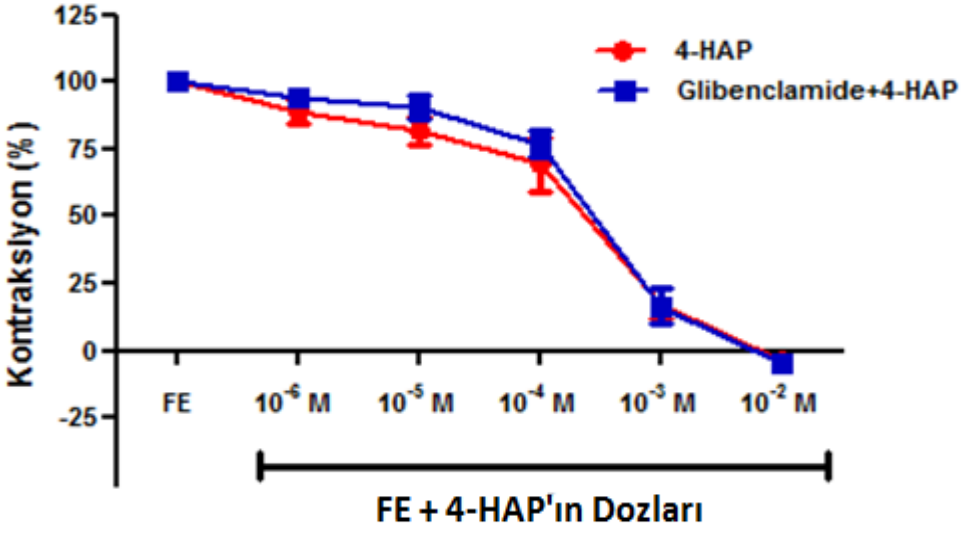
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda glibenclamide yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %18.03±6.15 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda glibenclamide varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %10.91±4.99 oranında gevşetti. Banyoda glibenclamide varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda glibenclamide yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %29.49±11.24 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda glibenclamide varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %23.69±4.76 oranında gevşettiği belirlendi.

Banyoda glibenclamide varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda glibenclamide yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %82.18±7.01oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda glibenclamide varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %83.47±5.86 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda glibenclamide varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda glibenclamide yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %104.39±1.42 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda glibenclamide varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %105.05±2.24 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda glibenclamide varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.17. Glibenclamide varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.14. Glibenclamide varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
FE+10^{-6} M 4-HAP	11.31±5.63	
Glibenclamide +FE +10^{-6} M 4-HAP	7.53±3.84	**P>0.05**
FE+10^{-5} M 4-HAP	18.03±6.15	
Glibenclamide +FE +10^{-5} M 4-HAP	10.91±4.99	**P>0.05**
FE+10^{-4} M 4-HAP	29.49±11.24	
Glibenclamide +FE +10^{-4} M 4-HAP	23.69±4.76	**P>0.05**
FE+10^{-3} M 4-HAP	82.18±7.01	
Glibenclamide +FE +10^{-3} M 4-HAP	83.47±5.86	**P>0.05**
FE+10^{-2} M 4-HAP	104.39±1.42	
Glibenclamide +FE +10^{-2} M 4-HAP	105.05±2.24	**P>0.05**

4- Aminopyridine + FE + 4-HAP grubunda (B1-4 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu maksimum değer ulaşınca 4- HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamında 1mM 4-aminopyridine uygulanıp 20 dk maruziyet sağlandıktan sonra FE (10^{-7}M) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda 4-aminopyridine yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %27.35±3.00 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda 4-aminopyridine varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %2.61±1.73 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda 4-aminopyridine varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ($p<0.05$, n=6).

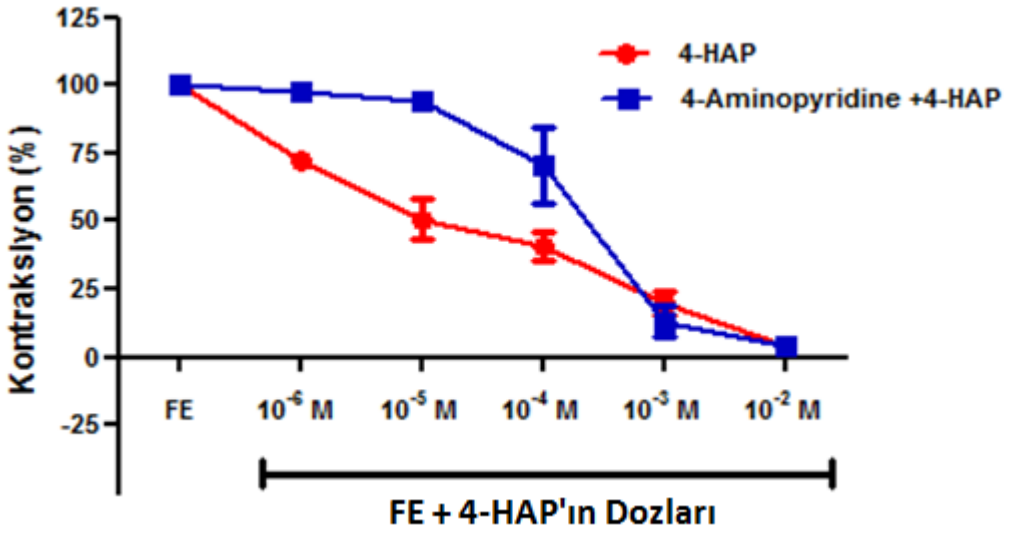
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda 4-aminopyridine yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %49.32±8.00 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda 4-aminopyridine varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %5.89±2.64 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda 4-aminopyridine varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ($p<0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda 4-aminopyridine yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %59.44±8.00 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda 4-aminopyridine varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %27.28±12.35 oranında gevşettiği belirlendi.

Banyoda 4-aminopyridine varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ($p<0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda 4-aminopyridine yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %80.20±4.91 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda 4-aminopyridine varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %84.51±6.77 gevşettiği görüldü. Banyoda 4-aminopyridine varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda 4-aminopyridine yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %95.65±1.73 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda 4-aminopyridine varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %96.35±1.27 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda 4-aminopyridine varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.18. 4-aminopyridine varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.15. 4-aminopyridine varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
FE+10^{-6} M 4-HAP	27.35±3.00	
4-Aminopyridine +FE +10^{-6} M 4-HAP	2.61±1.73	**P<0.05**
FE+10^{-5} M 4-HAP	49.32±8.00	
4-Aminopyridine +FE +10^{-5} M 4-HAP	5.89±2.64	**P<0.05**
FE+10^{-4} M 4-HAP	59.44±8.00	
4-Aminopyridine +FE +10^{-4} M 4-HAP	27.28±12.3	**P<0.05**
FE+10^{-3} M 4-HAP	80.20±4.91	
4-Aminopyridine +FE +10^{-3} M 4-HAP	84.51±6.77	**P>0.05**
FE+10^{-2} M 4-HAP	95.65±1.73	
4-Aminopyridine +FE +10^{-2} M 4-HAP	96.35±1.27	**P>0.05**

Nifedipine + FE + 4-HAP grubunda (B1-5 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu maksimum değere ulaşınca 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamına 10^{-4} M nifedipine uygulanıp 20 dk maruziyet sonrası FE (10^{-7}M) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda nifedipine yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %23.62±5.38 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda nifedipin varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %2.38±1.18 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda nifedipin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ($p<0.05$, n=6).

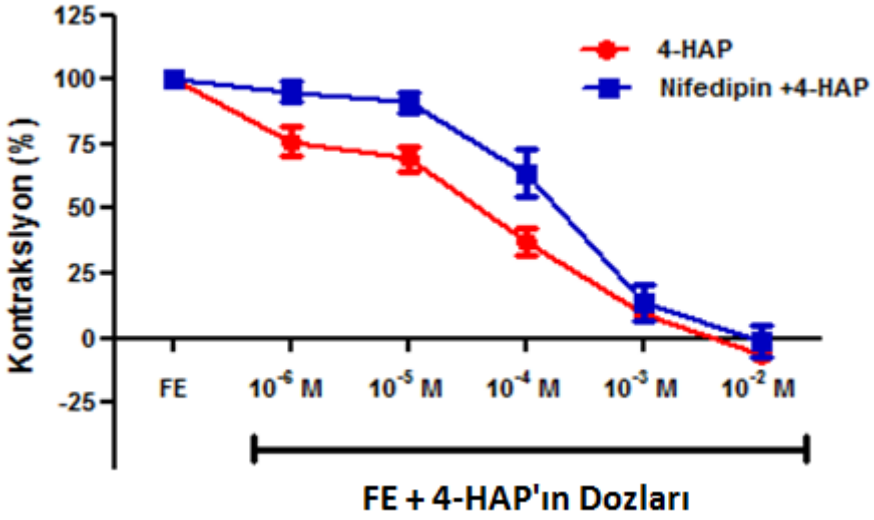
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda nifedipine yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %30.76±4.38 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda nifedipin varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %8.01±2.85 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda nifedipin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ($p<0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda nifedipine yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %63.90±6.34 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda nifedipin varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %31.76±5.42 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda nifedipin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ($p<0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda nifedipine yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %91.08±2.27 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda nifedipin varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %88.74±3.81 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda nifedipin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda nifedipine yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %106.27±1.26 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda nifedipin varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %105.46±2.93 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda nifedipin varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.19. Nifedipine varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.16. Nifedipine varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
FE+10^{-6} M 4-HAP	23.62±5.3	**P<0.05**
Nifedipin +FE +10^{-6} M 4-HAP	2.38±1.18	
FE+10^{-5} M 4-HAP	30.76±4.38	**P<0.05**
Nifedipin +FE +10^{-5} M 4-HAP	8.01±2.85	
FE+10^{-4} M 4-HAP	63.90±6.34	**P<0.05**
Nifedipin +FE +10^{-4} M 4-HAP	31.76±5.42	
FE+10^{-3} M 4-HAP	91.08±2.27	**P>0.05**
Nifedipin +FE +10^{-3} M 4-HAP	88.74±3.81	
FE+10^{-2} M 4-HAP	106.27±1.26	**P>0.05**
Nifedipin +FE +10^{-2} M 4-HAP	105.46±2.93	

SKF96365 + FE + 4-HAP grubunda (B1-6 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu maksimum kasılım verince 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamına 10 μM SKF96365 uygulandı. 20 dk maruziyet sonrasında FE (10^{-7}M) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda SKF96365 yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %7.24±4.57 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda SKF96365 varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %9.09±5.96 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SKF96365 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

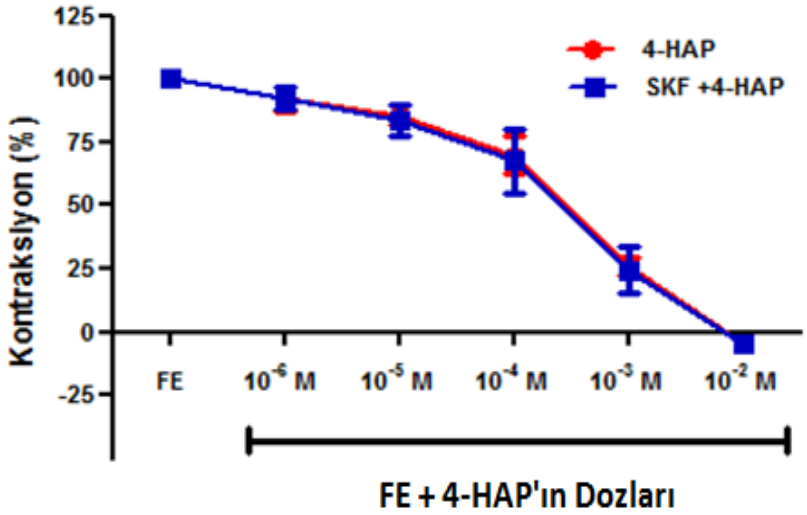
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda SKF96365 yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %13.15±4.41 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda SKF96365 varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %17.00±7.57 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SKF96365 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda SKF96365 yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %29.66±6.93 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda SKF96365 varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %34.30±11.20 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda SKF96365 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas

kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda SKF96365 yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %74.34±4.31 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı ise ortamda SKF96365 varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %78.84±9.02 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SKF96365 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda SKF96365 yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %105.15±1.73 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda SKF96365 varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %105.97±2.41 oranında gevşettiği belirlendi.



Şekil 4.20. SKF96365 varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.17. SKF96365 varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	P Değeri
FE+10^{-6} M 4-HAP	7.24±4.57	
SKF96365 +FE +10^{-6} M 4-HAP	9.09±5.96	**P>0.05**
FE+10^{-5} M 4-HAP	13.15±4.41	
SKF96365+FE +10^{-5} M 4-HAP	17.00±7.57	**P>0.05**
FE+10^{-4} M 4-HAP	29.66±6.93	
SKF96365+FE +10^{-4} M 4-HAP	34.30±11.2(	**P>0.05**
FE+10^{-3} M 4-HAP	74.34±4.31	
SKF96365 +FE +10^{-3} M 4-HAP	78.84±9.02	**P>0.05**
FE+10^{-2} M 4-HAP	105.15±1.73	
SKF96365+FE +10^{-2} M 4-HAP	105.97±2.41	**P>0.05**

U73122 + FE + 4-HAP grubunda (B1-7 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 10^{-7}M FE uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu maksimum değere ulaşınca 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamına10 µM U73122 uygulandıktan 20 dk sonra FE (10^{-7}M) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda U73122 FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %17.73±8.63 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda U73122 varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %22.36±8.89 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda U73122 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

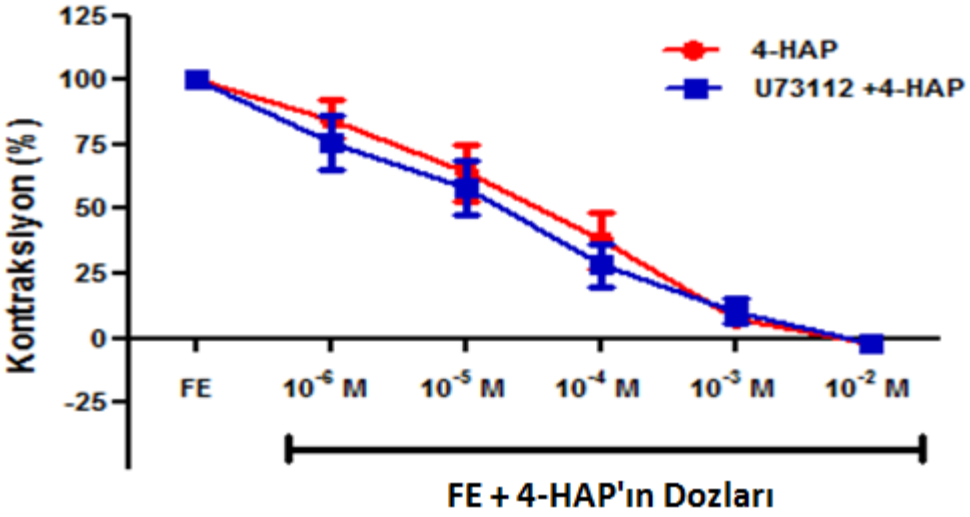
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda U73122 yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %39.30±12.80 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda U73122 varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %38.52±10.21 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda U73122 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda U73122 yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %64.25±11.30 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda U73122 varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %68.61±10.84 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda U73122 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda U73122 yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %91.90±2.43 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda U73122 varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %90.33±4.10 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda U73122 varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda U73122 yokken FE ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %102.12±0.46 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda U73122 varlığında FE ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %103.35±1.73 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda U73122

varlığında ve yokluğunda FE ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.21. U73122 varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

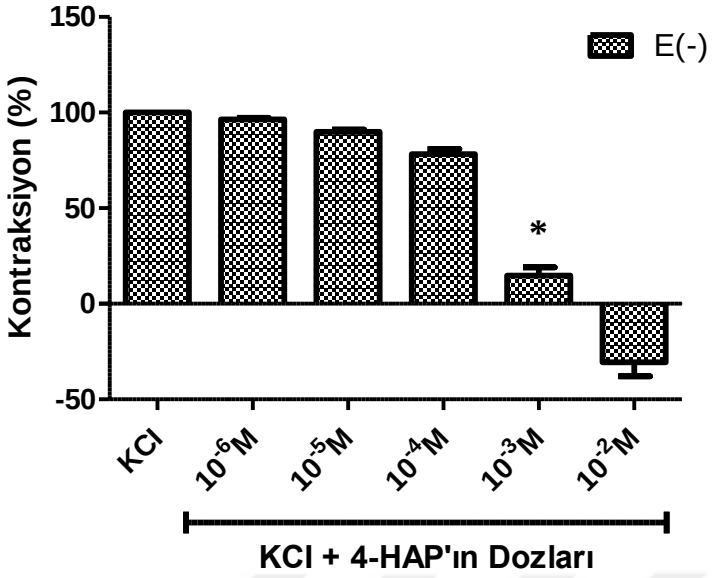
Tablo 4.18. U73122 varlığında 10^{-7} M FE ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	P Değeri
FE+10^{-6} M 4-HAP	17.73±8.63	
U73122 +FE +10^{-6} M 4-HAP	22.36±8.89	**P>0.05**
FE+10^{-5} M 4-HAP	39.30±12.80	
U73122 +FE +10^{-5} M 4-HAP	38.52±10.21	**P>0.05**
FE+10^{-4} M 4-HAP	64.25±11.30	
U73122+FE +10^{-4} M 4-HAP	68.61±10.84	**P>0.05**
FE+10^{-3} M 4-HAP	91.90±2.43	
U73122 +FE +10^{-3} M 4-HAP	90.33±4.10	**P>0.05**
FE+10^{-2} M 4-HAP	102.12±0.46	
U73122+FE +10^{-2} M 4-HAP	103.35±1.73	**P>0.05**

KCI Grubunda (B2 Grubu); KCI'nin 40mM dozu ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas halkalarının maksimum kasılma cevapları elde edilmiştir. Gram cinsinden elde edilen kasılma cevaplarının ortalaması alınarak bu değer %100 kabul edilip çeşitli antagonist banyo ortamında varlığında ve yokluğunda aort dokularının 4-HAP'a verdiği gevşeme yanıtlarının yüzdesi hesaplandı.

KCI + 4-HAP grubunda (B2-1 grubu); Bu grupta KCI (40mM) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları KCI ile indüklenen endotelsiz torasik aort düz kas kontraksiyonlarını sırasıyla; %3.65±2.19, %10.08±3.05, %21.78±7.11, %85.18±11.47 ve %130.53±19.42 oranında gevşettiği belirlendi.



Şekil 4.22. 40mM KCl ile indüklenen in vitro rat endotelsiz [E(-)] aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

TEA + KCl + 4-HAP grubunda (B2-2 grubu); Bu deneyde banyo ortamına 40mM KCl uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu maksimuma ulaşınca 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Daha sonra banyo ortamına 1 mM TEA uygulanıp 20 dk maruziyetten sonra KCl (40mM) ile indüklenmiş in vitro endotelsizrat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda TEA yokken KCl ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %3.39±2.11 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun iseortamda TEA varlığında KCl ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %4.60±3.36 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda TEA varlığında ve yokluğunda KCl ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

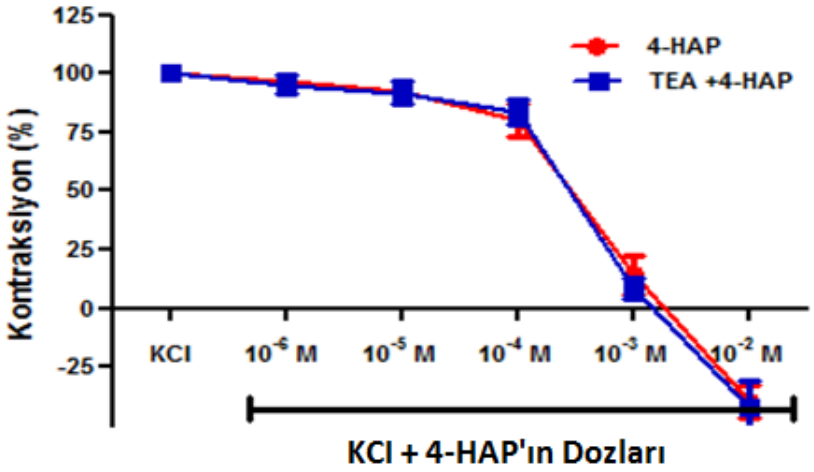
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda TEA yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %7.72±2.47 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda TEA varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %8.29±4.01 oranında gevşetti. Banyoda TEA varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda TEA yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %19.94±7.13 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda TEA varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %20.10±7.73 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda TEA varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda TEA yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %85.82±8.23 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda TEA varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %91.36±3.85 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda TEA varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda TEA yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %139.61±6.86 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda TEA varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %137.98±11.08 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda TEA

varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi (p>0.05, n=6).



Şekil 4.23. TEA varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi (p<0.05, n=6).

Tablo 4.19. TEA varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi (p<0.05, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
KCI+10^{-6} M 4-HAP	3.39±2.11	
TEA + KCI +10^{-6} M 4-HAP	4.60±3.36	**P>0.05**
KCI+10^{-5} M 4-HAP	7.72±2.47	
TEA + KCI +10^{-5} M 4-HAP	8.29±4.01	**P>0.05**
KCI+10^{-4} M 4-HAP	19.94±7.13	
TEA + KCI+10^{-4} M 4-HAP	20.10±7.73	**P>0.05**
KCI+10^{-3} M 4-HAP	85.82±8.23	
TEA + KCI +10^{-3} M 4-HAP	91.36±3.85	**P>0.05**
KCI+10^{-2} M 4-HAP	139.61±6.86	
TEA+ KCI+10^{-2} M 4-HAP	137.98±11.08	**P>0.05**

Glibenclamide + KCI + 4-HAP grubunda (B2-3 grubu); Bu çalımada banyo ortamına 40mM KCI uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu maksimuma ulaşınca 4- HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamına 10 μM glibenclamide uygulanıp 20 dk maruziyet sonrası KCI (40mM) ile indüklenen in vitro endotelsiz rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda glibenclamide yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %4.55±1.45 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda gibenclamide varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %3.25±1.56 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda glibenclamide varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

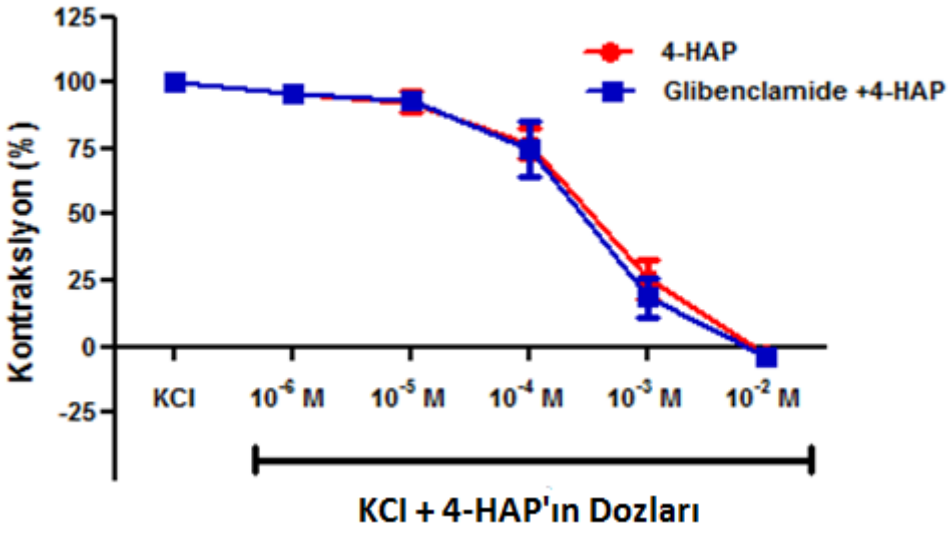
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda glibenclamide yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %7.89±4.79 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda gibenclamide varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %8.05±3.58 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda glibenclamide varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda glibenclamide yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %24.52±6.12 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda gibenclamide varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %26.61±9.90 oranında gevşettiği görüldü.

Banyoda glibenclamide varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda glibenclamide yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %76.37±8.30 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda gibenclamide varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %83.49±6.85 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda glibenclamide varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda glibenclamide yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %103.34±1.38 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda gibenclamide varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %103.43±1.83 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda glibenclamide varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.24. Glibenclamide varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4. 20. Glibenclamide varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
KCI+10^{-6} M 4-HAP	4.55±1.45	
Glibenclamide + KCI+10^{-6} M 4-HAP	3.25±1.56	**P>0.05**
KCI+10^{-5} M 4-HAP	7.89±4.79	
Glibenclamide + KCI+10^{-5} M 4-HAP	8.05±3.58	**P>0.05**
KCI+10^{-4} M 4-HAP	24.52±6.12	
Glibenclamide + KCI+10^{-4} M 4-HAP	26.61±9.90	**P>0.05**
KCI+10^{-3} M 4-HAP	76.37±8.30	
Glibenclamide + KCI+10^{-3} M 4-HAP	83.49±6.85	**P>0.05**
KCI+10^{-2} M 4-HAP	103.34±1.38	
Glibenclamide + KCI+10^{-2} M 4-HAP	103.43±1.83	**P>0.05**

4- Aminopridine + KCI + 4-HAP grubunda (B2-4 grubu); Bu grupta banyo ortamına 40mM KCI uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu pik yapınca 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamına 1mM 4-aminopyridine uygulanıp 20 dk maruziyet sonrası KCI (40mM) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda 4-aminopyridine yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %4.15±2.04 ortalama gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda 4-aminopyridine varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %5.11±2.52 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda 4-aminopyridine varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

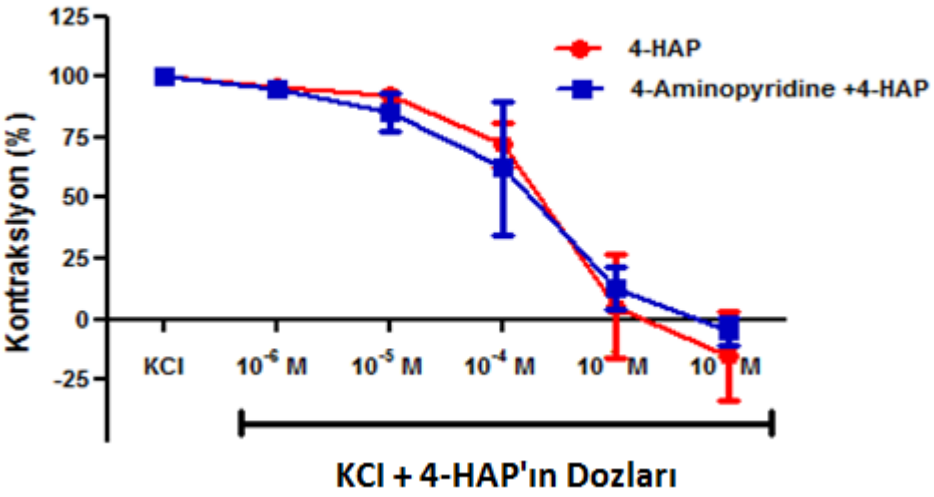
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda 4-aminopyridine yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %7.67±2.90 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda 4-aminopyridine varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %13.24±6.72 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda 4-aminopyridine varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda 4-aminopyridine yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %27.96±2.90 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda 4-aminopyridine varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %39.58±21.57 oranında gevşettiği belirlendi.

Banyoda 4-aminopyridine varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda 4-aminopyridine yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %95.00±21.27 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda 4-aminopyridine varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %93.56±12.30 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda 4-aminopyridine varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda 4-aminopyridine yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %115.10±18.17 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda 4-aminopyridine varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %109.88±9.72 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda 4-aminopyridine varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.25. 4-aminopyridine varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.21. 4-aminopyridine varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzrine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
KCI+10^{-6} M 4-HAP	4.15±2.04	
4-Aminopyridine+ KCI +10^{-6} M 4-HAP	5.11±2.52	**P>0.05**
KCI+10^{-5} M 4-HAP	7.67±2.90	
4-Aminopyridine + KCI +10^{-5} M 4-HAP	13.24±6.72	**P>0.05**
KCI+10^{-4} M 4-HAP	27.96±2.90	
4-Aminopyridine + KCI +10^{-4} M 4-HAP	39.58±21.57	**P>0.05**
KCI+10^{-3} M 4-HAP	95.00±21.27	
4-Aminopyridine + KCI +10^{-3} M 4-HAP	93.56±12.30	**P>0.05**
KCI+10^{-2} M 4-HAP	115.10±18.17	
4-Aminopyridine + KCI +10^{-2} M 4-HAP	109.88±9.72	**P>0.05**

Nifedipine + KCI + 4-HAP grubunda (B2-5 grubu); Bu çalışmada banyo ortamına 40mM KCI uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu pik yapınca 4-HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo

ortamına 10^{-4} M nifedipine uygulanıp 20 dk maruziyet sağlandıktan sonra KCI (40mM) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

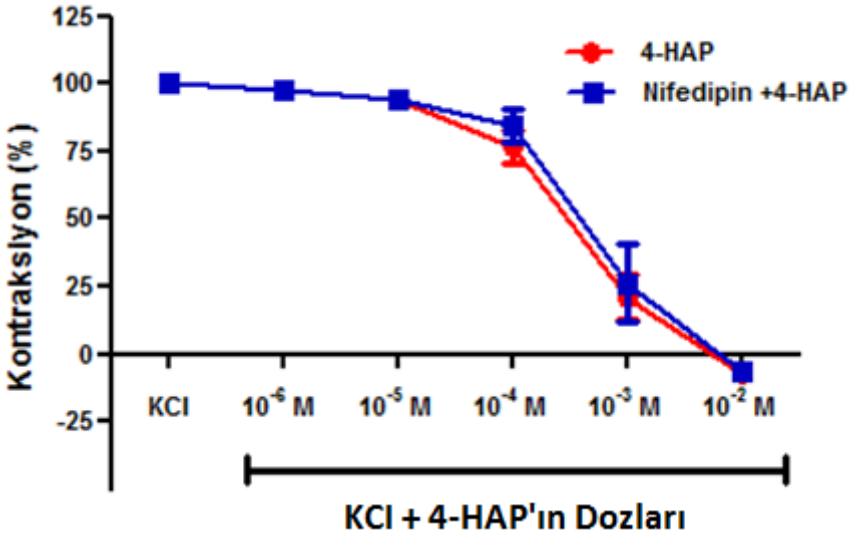
4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda nifedipine yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %3.13±1.76 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda nifedipin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %2.45±1.61 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda nifedipin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda nifedipine yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %6.40±2.39 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda nifedipin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %5.72±2.00 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda nifedipin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda nifedipine yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %24.83±6.58 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda ise nifedipin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %15.65±4.80 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda nifedipin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda nifedipine yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %80.00±10.29 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda nifedipin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %74.52±12.31 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda nifedipin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda nifedipine yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %107.28±1.88 oranında gevşettiği, 4-HAP'ın aynı dozunun ortamda nifedipin varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %106.26±2.26 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda nifedipin varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.26. Nifedipin varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.22. Nifedipin varlığında 40mM KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	P Değeri
KCI+10^{-6} M 4-HAP	3.13±1.76	
Nifedipin + KCI +10^{-6} M 4-HAP	2.45±1.61	**P>0.05**
KCI+10^{-5} M 4-HAP	6.40±2.39	
Nifedipin + KCI +10^{-5} M 4-HAP	5.72±2.00	**P>0.05**
KCI+10^{-4} M 4-HAP	24.83±6.58	
Nifedipin + KCI +10^{-4} M 4-HAP	15.65±4.80	**P>0.05**
KCI+10^{-3} M 4-HAP	80.00±10.29	
Nifedipin + KCI +10^{-3} M 4-HAP	74.52±12.31	**P>0.05**
KCI+10^{-2} M 4-HAP	107.28±1.88	
Nifedipin + KCI +10^{-2} M 4-HAP	106.26±2.26	**P>0.05**

SKF96365 + KCI + 4-HAP grubunda (B2-6 grubu); Bu çalışmada banyo ortamına 40mM KCI uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu maksimum değere ulaşınca 4- HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamına 10 μM SKF96365 uygulanıp 20 dk maruziyet sonrası KCI (40mM) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aort düz kas kantraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda SKF96365 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %6.04±1.32 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda SKF96365 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %5.53±2.18 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SKF96365 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas

kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$, n=6).

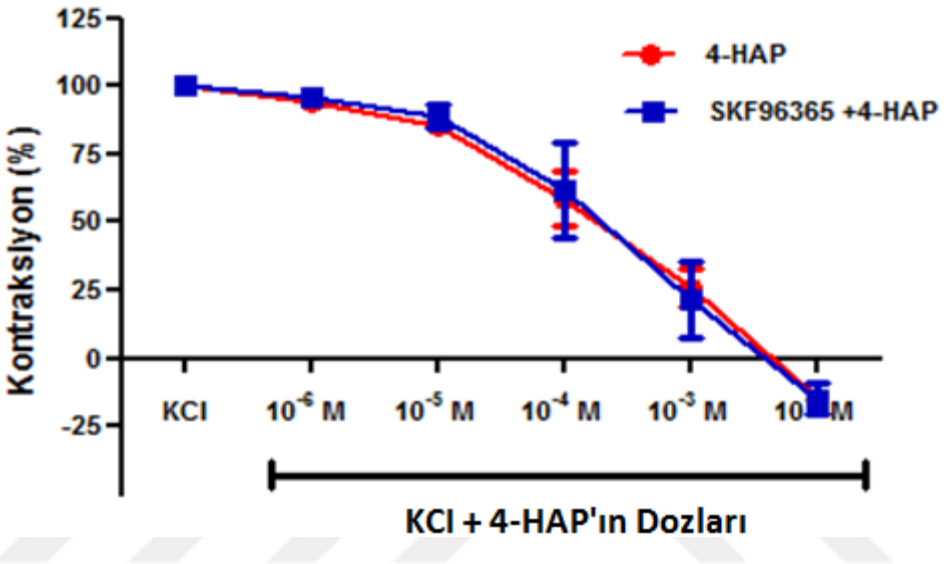
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda SKF96365 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %15.18±4.36 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı ise dozunun ortamda SKF96365 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %12.89±6.30 oranında gevşetti. Banyoda SKF96365 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda SKF96365 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %44.00±13.40 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda SKF96365 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %44.76±18.22 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SKF96365 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda SKF96365 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %72.45±8.94 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda SKF96365 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %78.90±14.22 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda SKF96365 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda SKF96365 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %114.26±3.43 oranında gevşettiği, 4-

HAP'ın aynı dozunun ortamda SKF96365 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %115.93±4.93 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda SKF96365 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).



Şekil 4.27. SKF96365 varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

Tablo 4.23. SKF96365 varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi ($p<0.05$, n=6).

	%Gevşeme X±SD	P Değeri
KCI+10^{-6} M 4-HAP	6.04±1.32	
SKF96365 + KCI +10^{-6} M 4-HAP	5.53±2.18	] **P>0.05**
KCI+10^{-5} M 4-HAP	15.18±4.36	
SKF96365 + KCI +10^{-5} M 4-HAP	12.89±6.30	] **P>0.05**
KCI+10^{-4} M 4-HAP	44.00±13.40	
SKF96365+ KCI +10^{-4} M 4-HAP	44.76±18.22	] **P>0.05**
KCI+10^{-3} M 4-HAP	72.45±8.94	
SKF96365 + KCI +10^{-3} M 4-HAP	78.90±14.22	] **P>0.05**
KCI+10^{-2} M 4-HAP	114.26±3.43	
SKF96365 + KCI +10^{-2} M 4-HAP	115.93±4.93	] **P>0.05**

U73122 + KCI+ 4-HAP grubunda (B2-7 grubu); Bu grupta banyo ortamına 40mM KCI uygulanıp endotelsiz aort düz kas kontraksiyonu maksimum değere ulaşınca 4- HAP'ın kümülatif dozları uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi ardından banyo ortamına 10µM U73122 uygulandı. 20 dk maruziyet sonrası KCI (40mM) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın çeşitli dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) kümülatif etkinliği araştırılmıştır.

4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun ortamda U73122 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %5.08±3.44 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda U73122 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %4.14±3.08 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda U73122 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

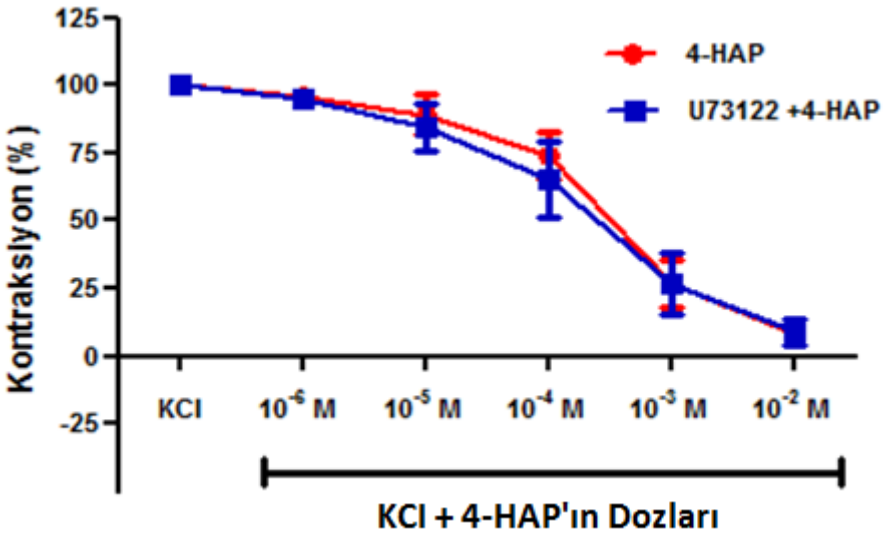
4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun ortamda U73122 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %10.22±7.25 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda U73122 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %12.53±8.23 oranında gevşettiği görüldü. Banyoda U73122 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-5} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadı ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun ortamda U73122 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %25.60±8.70 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda U73122 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %31.01±12.88 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda U73122 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-4} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun ortamda U73122 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %70.79±10.27 oranında gevşetti. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda U73122 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %76.78±10.93 oranında gevşettiği belirlendi. Banyoda U73122 varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadı ($p>0.05$, n=6).

4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun ortamda U73122 yokken KCI ile indüklenmiş in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %91.94±2.98 oranında gevşettiği belirlendi. 4-HAP'ın aynı dozunun ise ortamda U73122 varlığında KCI ile indüklenmiş in vitro torasik aort düz kas kontraksiyonlarını %89.46±4.71 oranında gevşetti. Banyoda U73122

varlığında ve yokluğunda KCI ile indüklenen torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-2} M dozunun gevşetici etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadı (p>0.05, n=6).



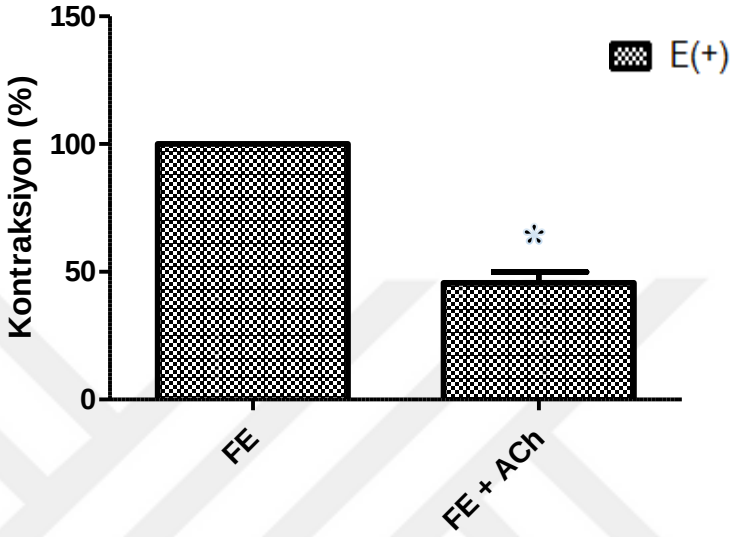
Şekil 4.28. U73122 varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi (p<0.05, n=6).

Tablo 4.24. U73122 varlığında 40Mm KCI ile indüklenen in vitro rat endotelsiz aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın farklı dozlarının gevşetici etkisi (p<0.05, n=6).

	%Gevşeme X±SD	**P Değeri**
KCI+10^{-6} M 4-HAP	5.08±3.44	
U73122 + KCI +10^{-6} M 4-HAP	4.14±3.08	**P>0.05**
KCI+10^{-5} M 4-HAP	10.22±7.25	
U73122 + KCI +10^{-5} M 4-HAP	12.53±8.23	**P>0.05**
KCI+10^{-4} M 4-HAP	25.60±8.70	
U73122+ KCI +10^{-4} M 4-HAP	31.01±12.88	**P>0.05**
KCI+10^{-3} M 4-HAP	70.79±10.27	
U73122 + KCI +10^{-3} M 4-HAP	76.78±10.93	**P>0.05**
KCI+10^{-2} M 4-HAP	91.94±2.98	
U73122 + KCI +10^{-2} M 4-HAP	89.46±4.71	**P>0.05**

FE İle İndüklenmiş Endotelli Aort Halkaları Üzerine ACh'ın Etkisi

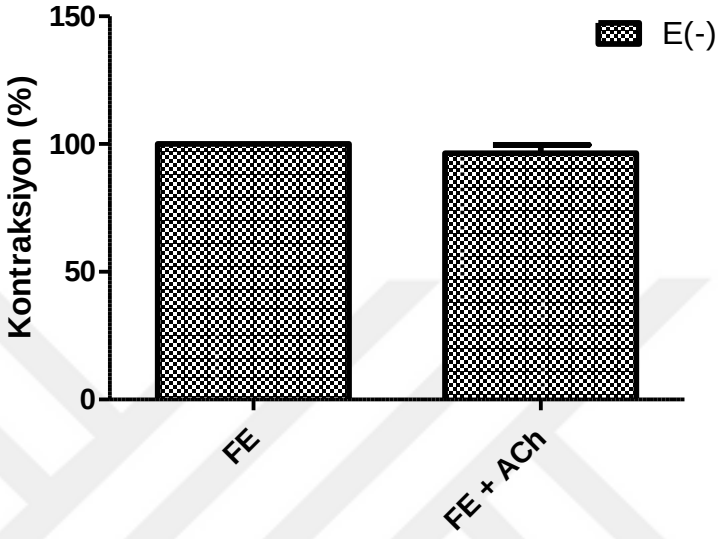
FE (10^{-7} M) ile indüklenmiş in vitro endotelli rat torasik aort düz kas kontraksiyonunu ACh 'ın (1 µM) %54.29 oranında gevşettiği belirlenmiştir ($p<0.05.,n=6$).



Şekil 4.29. FE ile indüklenmiş in vitro rat endotelli [E(+)] aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine Ach'ın etkisi ($p<0.05$, $n=6$).

FE İle İndüklenmiş Endotellisiz Aort Halkaları Üzerine ACh'ın Etkisi

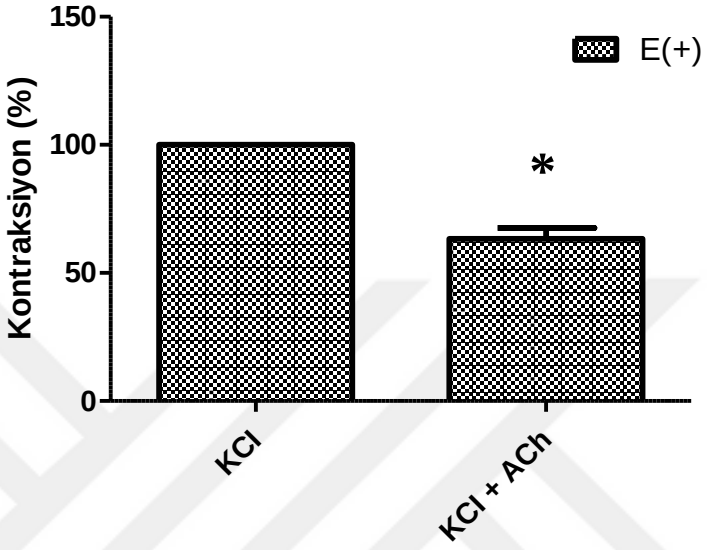
FE (10^{-7} M) ile indüklenmiş in vitro endotellisiz rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını ACh 'ın (1 μM) %3.00 oranında gevşettiği belirlenmiştir (p>0.05.,n=6).



Şekil 4.30. FE ile indüklenmiş in vitro rat endotelsiz [E(-)] aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine Ach'ın etkisi (p<0.05, n=6).

KCI İle İndüklenmiş Endotelli Aort Halkaları Üzerine ACh'ın Etkisi

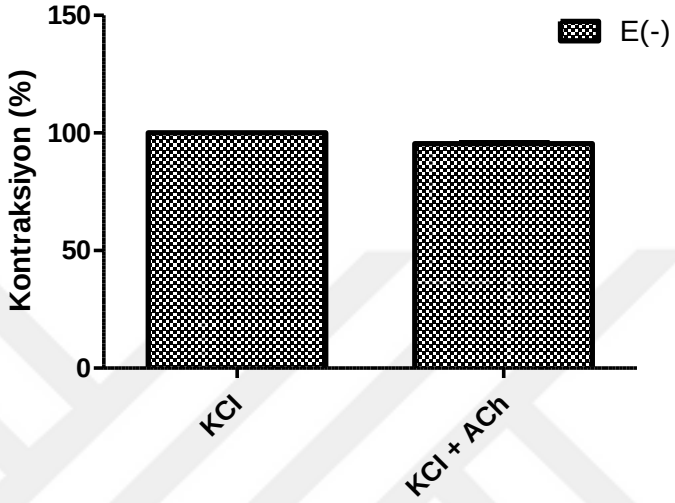
KCI (40mM) ile indüklenmiş in vitro endotelli rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını ACh 'ın (1 μM) %46.81 oranında gevşettiği belirlenmiştir ($p<0.05.,n=6$).



Şekil 4.31. KCI ile indüklenmiş in vitro rat endotelli [E(+)] aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine Ach'ın etkisi ($p<0.05$, $n=6$).

KCI İle İndüklenmiş Endotellisiz Aort Halkaları Üzerine ACh'ın Etkisi

KCI(40mM) ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aort düz kas kontraksiyonlarını ACh 'ın (1 μM) %3.88 oranında gevşettiği belirlenmiştir (p>0.05.,n=6).



Şekil 4.32. KCI ile indüklenmiş in vitro rat endotelsiz [E(-)] aort halkalarının düz kas kontraktilitesi üzerine Ach'ın etkisi (p>0.05, n=6)

5. TARTIŞMA

Z. clinopodioides Lam. ateş, ödem, kalp hastalıkları, insomia, trakeitis, akciğer apsesi ve hemoroidin gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde halk arasında alternatif tedavi şeklinde yaygın olarak kullanımı olan bir bitki türüdür. Bazı çalışmalarla bu bitki ailesinin Ziziphora cinsinde esansiyel yağlar, flavonoidler, yağ asitleri, caffeol derivatları ve sterol gibi bileşenleri bulundurduğu belirlenmiştir.[2, 113] Yapılan çeşitli çalışmalarla Ziziphora clinopodioides Lam.'da mevcut olan esansiyel yağların antimikrobiyal, antifungal, antioksidan ve sedatif etkili olduğu rapor edilmiştir.[14, 114] Corine Girard-Thernier ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Z. clinopodioides Lam'dan vasodilatator etkinliği olan apigenin, chrysin, acacetin, thymonin gibi flavonoidler, acetovanillone, 4-hydroxyacetophenone (4-HAP) gibi fenolik bileşikler ve cinnamic asit derivatı olan ethyl 4-coumarate olmak üzere yedi bileşik izole edilmiştir.

Bir flavanoid olan apigenin bileşiği, Z. clinopodioides ve diğer birçok bitkide bol miktarda bulunmaktadır. Apigeninin hipotensif, antiinflamatuar,[17, 18] antispasmodik,[19] antikarsinojenik[20] ve antioksidan[21] gibi çeşitli biyolojik etkinlikleri vardır. Sui ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada izole edilmiş rat torasik aortunda apigeninin vazorelaksan etkili olduğu, bu etkisinin hangi mekanizma veya mekanizmalardan olduğunu belirlemek amacı ile çeşitli antagonistler kullanıldığında endotele bağımlı olarak NO/cGMP üzerinden, endotelden bağımsız olarak ekstrasellüler alandan Ca^{+2} akışı, hücre içi depolardan Ca^{+2} serbestlenmesi ve K^{+} kanalları aracılığı ile olduğu belirlenmiştir.[22]

Z. clinopodioides'in yapısında bulunan diğer bir flavanoid chrysindir. Chrysin'ın (5,7-dihydroxyflavone) son zamanlarda antioksidan, antiviral, antiallerjik, antiinflamatuar ve antidiabetogenik gibi çeşitli etlkilerinin olduğu rapor edilmiştir.[115] Ajay ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada chrysin'in FE ve KCI ile

indüklenmiş aort kontraksiyonlarını önemli ölçüde gevşettiğini belirlemişlerdir.[116] Yine Villar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada chrysin'in isole rat aortunda NO seviyesini artırarak vasodilatasyona neden olduğu bildirilmiştir.[24]

Acetovanillone, Z. clinopodioides'in yapısında bulunan bir fenolik bileşik olup Senejoux F. ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada izole rat torasik aortunda Ca^{+2} ve NOS aracılı vazorelaksiyona neden olduğu belirlenmiştir.[25]

Acacetin, Z. clinopodioides'in yapısındaki diğer bir flavanoid olup, antinociceptiv/antiinflamatuar etkili olduğu belirlenmiştir.[117] Yapılan litaratür taramaları sonucunda acacetinin, thymonin, ethyl 4-coumarate ve 4-HAP'ın vasorelaksan etkinliğinin mekanizmasını belirleyici yönde bilgiye rastlanmamıştır.

4-HAP, Z. clinopodioides'in yapısında bulunan bir fenolik bileşik olup yüksek dozlarda safra sekresyonunu uyarmaktadır.[35] Önceki çalışmalarda vasorelaksan etkili olduğu bildirilen bu bileşiğin yapılan literatür taramalarında vazorelaksan etkinliğinin hangi mekanizma veya mekanizmalar üzerinden gerçekleştiğine dair literatür bilgiye rastlanmamıştır.

Bu bilgiler doğrultusunda yaptığımız bu çalışmada FE ve KCI ile indüklenen in vitro rat torasik aort düz kas kontraksiyonları üzerine Z. clinopodioides'in yapısında bulunan 4-HAP'ın gevşetici etkisinin hangi mekanizma veya mekanizmalar üzerinden gerçekleştirdiğini belirlemeyi amaçladık.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelli rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın etkisi; Endotelli rat torasik aort düz kas kontraksiyonları FE (10^{-7} M) ile indüklendikten sonra 4-HAP'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları banyo ortamına kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Düz kas kontraksiyonları FE ile indüklendiği zaman FE hücre yüzeyine bulunan α reseptöre bağlanınca fosfolipaz C enzimi etkin hale gelmektedir. Etkin hale gelen enzim IP_3 ve DAG oluşumunu uyarır.

Oluşan IP_3 sarkoplazmik retikulum üzerinde bulunan reseptörüne bağlanarak depo edilen Ca^{+2} iyonlarının stoplazmaya serbestlenmesini sağlar. DAG ise PKC aracılığı ile miyozin hafif zincir fosfatazın etkinliğini engeller böylece kasılmayı uyarır. Ayrıca FE hücre yüzeyinde bulunan reseptör aracılı Ca^{+2} kanallarıyla (ROCCs) ekstra sellüler alandan hücre içerisine Ca^{+2} akışını sağlar. [118, 119] Böylece vasküler düz kasta kontraksiyon meydana gelir. Çalışmamızda FE ile indüklenmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonlarını 4-HAP'ın bütün dozlarının (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M) önemli ölçüde gevşettiği belirlendi (Şekil 4.1).

FE ile indüklenmiş in vitro endotelli rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine atropin varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonları FE ile indüklenmeden 20 dk önce banyo ortamında atropin ile muamele edildi. Maruziyet sonrası FE ile indüklenen torasik aort düz kas konrtaksiyonları pike ulaşınca 4-HAP 'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Elde edilen gevşeme yanıtları banyo ortamında atropin yokken elde edilen yanıtlarla karşılaştırılarak değerlendirildi. Atropin bir muskarinik reseptör antagonisti olup endotelli dokuda muskarinik reseptörlerin uyarılması ile gerçekleşebilecek damar gevşeme yanıtını engellemek amacı ile kullanıldı. mRNA çalışmaları damar endotelinde çeşitli muskarinik reseptör tiplerinin (M_1, M_3 ve M_5) olduğunu belirtmektedir.[65, 66] Bu reseptör tiplerinden M_3 reseptörleri asetilkolin (ACh) ile uyarıldığında endotel kaynaklı gevşeme yanıtı oluşturduğu çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir.[19, 67] Muskarinik reseptörler uyarıldıkları zaman endotel hücresinde Ca^{+2} iyonu artışına neden olmaktadır. Endotel hücresi içinde bu iyonun artışı NO sentezini artırır. Artan NO damar düz kasında guanil siklaz emzimini uyararak cAMP oluşumunu sağlar ve bu durum damarlarda gevşeme yanıtını oluşturur. Qu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada vasodilatasyona neden olan Cerebralcare Granule (CG) bitkisinin

norepinefrin (NE) ile uyarılmış endotelli aort düz kas kontraksiyonlarını atropin varlığında etkisinin önemli ölçüde engellediğini belirtmişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda CG bitkisinin vasorelaksan etkinliğini muskarinik reseptörler üzerinden gerçekleştirebileceği rapor edilmiştir.[120] Bizim yaptığımız çalışmada atropin varlığında FE ile indüklenmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP 'ın gevşetici etkinliğinin değişmediği belirlendi (Şekil 4.5 ve Tablo 4.4). Bu sonuçlar 4-HAP 'ın vazorelaksan etkinliğinin muskarinik reseptörler üzerinden olmadığını düşündürmektedir.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelli rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine propranolol varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonları FE ile indüklenmeden 20 dk önce propranolol ile muamele edildi. Maruziyet sonrasında 4-HAP 'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları banyo ortamına kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları belirlendi. Elde edilen gevşeme yanıtları banyo ortamında propranolol yokken elde edilen yanıtlarla karşılaştırılarak değerlendirildi. Propranolol β_1 ve β_2-adrenerjik reseptör (β-ARs) antagonisti olup endotelli aort dokusundan β reseptörlerinin uyarılması ile gerçekleşebilecek gevşeme yanıtlarını engellemek amacı ile kullanıldı. Beta reseptörleri kan basıncını ve damar tonusunu düzenlemede etkilidirler. Damar endotelinde β1, β2 ve β3 olmak üzere üç tip β reseptörü tanımlanmıştır.[121] Bu reseptörlerin uyarılması sonucu damar düz kas hücresinde adenilat siklazın aktivasyonu ile hücre içerisindeki cAMP artışına neden olur. [122] Ayrıca endotel hücresinde NO-cGMP aracılığı ile vasodilatasyona neden olmaktadırlar.[123, 124] Wang ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada Euphorbia humifusa bitki ekstraktının vasorelaksan etki mekanizmasını belirlemek amacı ile propranolol varlığında FE ile uyarılmış aort halkalarının gevşeme yanıtları ortamda propranalol yokken elde edilen yanıtlarla karşılaştırıldığında önemli bir değişikliğin olmadığı, böylelikle bu bitkinin

vasorelaksan etkinliğinin β resptörleri üzerinden olmadığı kanaatine varılmıştır.[125] Yaptığımız bu çalışmada banyo ortamında propranolol varlığında elde edilen bulgular ortamda propranalol yokken elde edilen yanıtlarla karşılaştırıldığında propranolol'un 4-HAP'ın neden olduğu gevşeme yanıtlarını önemli ölçüde etkilemediği belirlendi (Şekil 4.4 ve Tablo 4.3). Bu durum bize 4-HAP'ın vazorelaksan etkinliğinin β reseptörler aracılığı ile olmadığını düşündürmektedir.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelli rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine L-NAME varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonları FE ile indüklenmeden 20 dk önce L-NAME ile muamele edildi. Maruziyet sonrasında 4-HAP 'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları banyo ortamına kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Bu gevşeme yanıtları banyo ortamında L-NAME yokken elde edilen yanıtlarla karşılaştırılarak değerlendirildi. L-NAME, nitrik oksit sentetaz (NOS) enziminin inhibitörü olup NO sentezlenmesini engellemek amacı ile kullanıldı. NO endotel hücrelerinden salınan ve damar tonusunun düzenlenmesinde oldukça önemli rol oynayan bir madddedir.[77] NO, endotel hücrelerinden endotelial nitrikoksit sentetaz (eNOS) enziminin uyarılması sonucu üretilmektedir. Salınan NO damar düz kasında guanil siklazı uyararak cGMP oluşumuna neden olur. Oluşan cGMP damar düz kas hücresinde üç yol ile gevşeme yanıtını uyarmaktadır bu yollardan ilki; PKG'nin uyarılması sonucu damar düz kas hücresi duvarındaki K^+ kapılarını açtırıp, ektrasellüler alana K^+ çıkışına neden olmakta ve hücre içi pozitif iyon sayısının azalması membranda hiperpolarizasyon meydana gelmekte böylece gevşeme yanıtı uyarılmaktadır. İkincisi; hücre zarında bulunan Ca^{+2} kanallarını kapatarak hücre içerisine Ca^{+2} girşinin engellenmesidir. Üçüncü yol ise, hücre içi depolara stoplazmadaki Ca^{+2} iyonunun pompalanmasıdır. Jin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada FE ile indüklenmiş endotelli aort düz kas konrtaksiyonları üzerine Radix

Paeoniae Rubra bitki ekstraktının L-NAME varlığında vasorelaksan etkinliğinin önemli ölçüde engellediği belirlenmiştir. Jin ve arkadaşları bu bitki ekstraktının damardaki vazorelaksan etkinliğinin NO üzerinden olduğunu ifade etmişlerdir.[126] Bizim yaptığımız çalışmada FE ile indüklenmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6},10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarının L-NAME varlığında vasorelaksan etkinliğinin önemli ölçüde engellendiği gözlemlendi (Şekil 4.2 ve Tablo 4.1). Bu sonuçlara doğrultusunda bir fenolik bileşik olan 4-HAP'ın bu etkinliği NO ile düzenlenen gevşeme mekanizması sürecinde etkili olduğu düşünülebilir. Ancak 4-HAP'ın 10^{-2} ve 10^{-3} M dozlarının vazorelaksan etkisi üzerine L-NAME'in engelleyici etkinliği görülmedi. 4-HAP'ın 10^{-2} ve 10^{-3} M dozlarının çok yüksek konsantrasyon değerleri olması doku bazında antagonist etkinliğini yetersiz kılıcı bir etki doğurmuş olabilir.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelli rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine ODQ varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonları FE ile indüklenmeden 20 dk önce ODQ ile muamele edildi. Maruziyet sonrasında 4-HAP 'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları banyo ortamına kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları alındı. Elde edilen gevşeme yanıtları banyo ortamında ODQ yokken elde edilen yanıtlarla karşılaştırılarak değerlendirildi. ODQ damar düz kas hücresi içerisinde bulunan guanil siklaz enziminin antagonisti olup, bu enzimin etkinliğini ortadan kaldırmak amacı ile kullanıldı. Guanil siklaz enzimi endotel kaynaklı NO tarafından uyarılarak etkin hale getirilir. Etkin hale gelen guanil siklaz enzimi GTP'i cGMP'ye dönüştürür. Etkin hale geçen cGMP protein kinaz G'yi (PKG) aktive eder aktif hale geçen bu enzim ise K^+ kapılarını açarak ektrasellüler alana K^+ çıkışına neden olmakta ve hücre içi pozitif iyon sayısının azalması membranda hiperpolarizasyon meydana getirir. Bu durum damar düz kasında gevşeme yanıtını uyarılmaktadır.[127] Pantan R. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada vazorelaksan etkili olan 16-O-acetyldihydroisosteviol (ADIS)'in izole edilmiş

rat torasik aort düz kası üzerine bu etkinliği hangi mekanizma ile gerçekleştirdiğini belirlemek amacı ile bir guanil siklaz enzim inhibitörü olan ODQ banyo ortamında varken ADIS'in vasorekasna etkinliğinin değişmediği belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda ADIS'in vasorekaksan etsinin guanil siklaz üzerinden olmadığı sonucuna varılmıştır.[128] Yaptığımız çalışmada vazorelaksan etkinliği olan 4- HAP'ın banyo ortamında ODQ varken oluşturduğu etkilliğin ortamda ODQ yokken elde edilen sonuçlara benzer olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6 ve Tablo 4.5). Bu sonuçlar bize 4-HAP'ın bu etkisinin gunil siklaz enzimi üzerinden olmadığını düşündürmektedir.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelli rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine indomethacin varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonları FE ile indüklenmeden 20 dk önce indomethacin ile muamele edildi. Maruziyet sonrasında 4-HAP 'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları banyo ortamına kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Elde edilen gevşeme yanıtları banyo ortamında indomethacin yokken elde edilen yanıtlarla karşılaştırılarak değerlendirildi. İndomethacin cyclooxygenase (COX) enziminin inhibitörü olarak kullanıldı. Endotel hücresi uyarıldığında araşidonik asitten COX enziminin etkisi ile prostasiklin (PGI_2) sentezlenir. Sentezlenen PGI_2 düz kas hücre yüzeyinde bulunan reseptörüne bağlanarak adenil siklaz enzimini uyarıp, ATP'den cAMP oluşmasını sağlar. cAMP de protein kinaz A enzimini etkin hale getirir. Etkinleşen bu enzim hücre yüzeyindeki Ca^{+2} duyarlı K^+ kapılarının açılmasını uyararak damar düz kas hücre içindeki K^+ iyonlarının dışarı çıkışını sağlar. Bu durum hücrede hiperpolarizasyona neden olur ve böylelikle vasorelaksiyon meydana gelir. Chen H. ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada Schizophyllum commune (SC) ekstraktının vazodilatatör etki mekanizmasını belirlemek amacı ile COX inhibitörü olan indomethacinin banyo ortamında varlığında SC ekstraktının vazorelaksan etkisinin engellediği belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda SC ekstraktının vazorelaksan

etkisinin COX enzimi aracılığı ile yaptığı sonucuna varılmıştır.[129] Yaptığımız çalışmada vazorelaksan etkinliği olan 4- HAP'ın banyo ortamında indomethacin varken oluşturduğu etkilliğin ortamda indomethacin yokken elde edilen sonuçlara benzer olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3 ve Tablo 4.2). Bu sonuçlar bize 4-HAP'ın bu etkisinin COX enzimi üzerinden olmadığını düşündürmektedir.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelli rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine SQ22.536 varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonları FE ile indüklenmeden 20 dk önce SQ22.536 ile muamele edildi. Maruziyet sonrasında 4-HAP 'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları banyo ortamına kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Elde edilen gevşeme yanıtları banyo ortamında SQ22.536 yokken elde edilen yanıtlarla karşılaştırılarak değerlendirildi. SQ22.536 adenil siklaz enzim inhibitörü olarak kullanıldı. Adenil siklaz aktive olduğunda ATP'nin cAMP dönüşümünü uyarır. Bu aşamadan sonra cAMP sitoplazmadaki protein kinaz A enzimini aktive eder. Etkinleşen bu enzim hücre yüzeyindeki Ca^{+2} duyarlı K^{+} kapılarının açılmasını uyararak damar düz kas hücre içindeki K^{+} iyonlarının dışarı çıkışını sağlar. Bu durum hücrede hiperpolarizasyona neden olur. Bu hiperpolarize durum hücre zarında voltaja duyrlı Ca^{+2} kanallarının kapanmasını uyarır. Membrandaki Na/Ca-ATP azı akitve ederek hücre içerisindeki Ca^{+2} iyonunun azalmasını sağlar ve böylelikle vasorelaksiyon meydana gelir. Turcato S. ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada iloprost adı verilen prostasiklinin sentetik karboksil derivatı olan, maddenin vazodilatatör etki mekanizmasını belirlemek amacı ile adenilat siklaz inhibitörü olan SQ22536 banyo ortamında varlığında iloprost'un vazorelaksan etkisinin etkilenmediği belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda iloprost'un vasorelaksan etkisinin adenilat siklaz enzimi aracılığı ile gerçekleştirmediği sonucuna varılmıştır.[130] Yaptığımız çalışmada damar düz kas preparatında gevşetici etkinliği olan 4- HAP'ın banyo ortamında SQ22536 varken

meydana gelen gevşeme yanıtının ortamda SQ22536 yokken elde edilen sonuçlara benzer olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7 ve Tablo 4.6). Bu sonuçlar bize 4-HAP'ın bu etkisinin adenilat siklaz enzimi üzerinden olmadığını düşündürmektedir.

KCI ile indüklenmiş in vitro endotelli rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın etkisi; Endotelli aort halkaları KCI (40 mM) ile uyarıldıktan sonra 4- HAP'ın 10^{-6}M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M ve 10^{-2} M dozları banyo ortamına kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Düz kas kontraksiyonları KCl ile indüklendiği zaman ortamda K^{+} yoğunluğunun artmasına bağlı olarak kas fiberlerinde depolarizasyon oluşur. Kas fiberlerinde meydana gelen depolarizasyon voltaja duyarlı L tipi Ca^{+2} kanallarının açılmasına sebep olur. Voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarının açılması aracılığı ile de ekstrasellüler alandan hücre içine Ca^{+2} girişi meydana gelmektedir.[131] Hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak hücre içi Ca^{+2} depolarında ki Ca^{+2} serbest bırakılır.[132, 133] Bu olaylar sonucunda düz kasta kasılım meydana gelir. KCI ile oluşturulan rat torasik aort düz kas kantraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-6},10^{-5},10^{-4} M dozlarının gevşetici etkisi istatistiksel olarak önemlilik arz etmezken ($p>0.05$) 10^{-3} ve 10^{-2} M dozlarının gevşetici etkisinin istatistiksel olarak önemlilik arz ettiği belirlendi ($p<0.05$). KCI ile indüklenmiş endotelli aort düz kas hakalarının kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} ve 10^{-2} M dozlarının gevşetici etkileri ortamda atropin, indomethacin, propranalol, ODQ, SQ22.536 ve L-NAME gibi çeşitli antagonistlerin ayrı ayrı varlığında da değişmedi. 4-HAP'ın 10^{-3} ve 10^{-2} M dozlarının FE ile indüklenmiş endotelli aort düz kas kontraksiyonları üzerinede her bir antagonistin ayrı ayrı varlığında gevşetici etkinliğinin önemli ölçüde değişmediği görüldü.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın etkisi; Endotelsiz aort halkaları FE (10^{-7} M) ile uyarıldıktan sonra 4- HAP'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları banyo ortamına kümülatif uygulanarak gevşeme

yanıtları elde edildi. Düz kas kontraksiyonları FE ile indüklendiği zaman hücre yüzeyine bulunan α reseptörlerinin uyarılması sonucu IP_3 ve DAG oluşumunu uyararır. IP_3 sarkoplazmik retikulumdan Ca^{+2} serbetlenmesini sağlar. Ayrıca FE hücre yüzeyinde bulunan reseptör aracılı Ca^{+2} kanallarıyla (ROCCs) hücre içerisine Ca^{+2} akışını sağlar [118, 119]. DAG ise PKC aracılığı ile miyozin hafif zincir fosfatazın etkinliğini engeller böylece kasılmayı uyarır. Bizim çalışmamızda FE ile uyarılmış endotelsiz aort halkalarını 4-HAP'ın 10^{-6} ve 10^{-5} M dozlarının gevşetici etkinliği istatiksel öneme arz etmezken 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozlarının önemli ölçüde gevşettiği belirlendi.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine TEA varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelsiz aort halkası FE ile indüklenmeden 20 dk önce TEA ile muamele edilip daha sonra 4-HAP 'ın 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M ve 10^{-2} M dozları kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Elde edilen cevaplar ortamda TEA yokken alınan cevaplarla karşılaştırılarak değerlendirildi. TEA Ca^{+2} aracılı K^+ kanal antagonisti olarak kullanıldı. Damar düz kasında oluşan hiperpolarizasyon K^+ kanallarının aktivasyonuyla ilişkilidir.[98] Bu kanalların aktivasyonuna bağlı hiperpolarizasyon ve gevşeme meydana gelmektedir. Silva M. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada aromatik bitkilerde bulunan p-Cymene yağının endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine vazorelaksan etkinliğin mekanizmasını belirlemek amacı ile banyo ortamında TEA varken elde edilen gevşeme yanıtları ortamda TEA yokken alınan yanıtlarla karşıştırıldığında istatiksel önem arz etmediği belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda p-Cymene yağının vazorelaksan etsisinin Ca^{+2} aracılı K^+ kanalları aracılığı ile olmadığı sonucuna varılmıştır.[134] Yaptığımız çalışmada vazorelaksan etkinliği olan 4- HAP'ın banyo ortamında TEA varken oluşturduğu etkilliğin ortamda TEA yokken elde edilen sonuçlara benzer olduğu

belirlenmiştir. Bu sonuçlar bize 4-HAP'ın bu etkisinin Ca^{+2} aracılı K^+ kanalları üzerinden olmadığını düşündürmektedir.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine glibenclamide varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelsiz aort halkası FE ile indüklenmeden 20 dk önce glibenclamide ile muamele edilip daha sonra 4-HAP 'ın 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M ve 10^{-2} M dozları kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Elde edilen cevaplar ortamda glibenclamide yokken alınan cevaplarla karşılaştırılarak değerlendirildi. Glibenclamide ATP' duyarlı K^+ kanal antagonisti olarak kullanıldı. Bu kanalların aktivasyonuna bağlı hiperpolarizasyon ve gevşeme meydana gelmektedir. Silva M. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada aromatik bitkilerde bulunan p-Cymene yağının endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine vazorelaksan etkinliğin mekanizmasını belirlemek amacı ile banyo ortamında glibenclamide varken elde edilen gevşeme yanıtları ortamda glibenclamide yokken alınan yanıtlarla karşıştırıldığında istatiksel önem arz ettiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda p-Cymene yağının vazorelaksan etsisinin ATP' ye duyarlı K^+ kanalları aracılığı ile olduğu sonucuna varılmıştır.[134] Yaptığımız çalışmada vazorelaksan etkinliği olan 4- HAP'ın banyo ortamında glibenclamide varken oluşturduğu etkilliğin ortamda glibenclamide yokken elde edilen sonuçlara benzer olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar bize 4-HAP'ın bu etkisinin ATP'ye duyarlı K^+ kanalları aracılığı ile gerçekleştirmediğini düşündürmektedir.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine 4-aminopyridine varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelsiz aort halkası FE ile indüklenmeden 20 dk önce 4-aminopyridine ile muamele edilip daha sonra 4-HAP 'ın 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M ve 10^{-2} M dozları kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Elde edilen cevaplar ortamda 4-aminopyridine yokken alınan cevaplarla

karşılaştırılarak değerlendirildi. 4-aminopyridine voltaja duyarlı K^+ kanal antagonisti olarak kullanıldı. Bu kanalların aktivasyonu sonucu hücre zarında bulunan K^+ kanallarının açılması ile K^+ iyonları dışarı çıkmakta ve hücre membranında hiperpolarizasyon meydana gelir. Bu durum damar düz kas dokusunda gevşemeye neden olur. Pantan R. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 16-O-acetyldihydroisosteviol (ADIS) denilen maddenin endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerine vazorelaksan etkinliğin mekanizmasını belirlemek amacı ile banyo ortamında 4-aminopyridine varken elde edilen gevşeme yanıtları ortamda 4-aminopyridine yokken alınan yanıtlarla karşıştırıldığında istatiksel önem arz etmediğini belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda ADIS'in vazorelaksan etkisinin voltaja duyarlı K^+ kanalları aracılığı ile olmadığı sonucuna varılmıştır.[128] Yaptığımız çalışmada vazorelaksan etkinliği olan 4-HAP'ın banyo 10^{-6}, 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarının ortamında 4-aminopyridine varken oluşturduğu etkilliğin ortamda 4-aminopyridine yokken elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında, bu değerler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar bize 4-HAP'ın bu etkisinin voltaja duyarlı K^+ kanalları aracılığı ile gerçekleşebileceğini düşündürmektedir.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine nifedipine varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelsiz aort halkası FE ile indüklenmeden 20 dk önce nifedipine ile muamele edilip daha sonra 4-HAP 'ın 10^{-6}M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M ve 10^{-2} M dozları kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Elde edilen cevaplar ortamda nifedipin yokken alınan cevaplarla karşılaştırılarak değerlendirildi. Nifedipin L-tipi Ca^{+2} kanal antagonisti olarak kullanıldı. Hücre zarında bulunan L-tipi Ca^{+2} kanalları aktive oldukları zaman hücre içerisine Ca^{+2} iyonlarının girişi artar ve hücrede depolarizasyon sonucu kontraksiyon meydana gelir. Stoplazmadaki Ca^{+2} iyon konsantrasyonu hücre membranında bulunan kanallar ve hücre içerisinde depo

edilen Ca^{+2} iyonlarının salınması ile artmaktadır. [135, 136] Kang YH. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Cinnamomi ramulus (CR) bitkisinin etanollü ekstraktının damarlar üzerindeki vasorelaksan etkinliğinin mekanizmasını belirlemek amacı ile endotelsiz rat torasik aort düz kaslarının nifedipin varlığında FE indükledikten sonra CR ekstraktının vasorelaksan etkinliğinin ortamda nifedipin yokken elde edilen değerlerle karşılaştırdıklarında nifedipinin CR'nin vasorelaksan etkinliğini önemli ölçüde inhibe ettiğini belirlemişlerdir.[137] Bu sonuçlar doğrultusunda CR bitkisinin bu etkinliği L-tipi Ca^{+2} kanalları aracılığı ile gerçekleştirdiği sonucuna varılmıştır. Yaptığımız çalışmada vasorelaksan etkinliği olan 4- HAP'ın banyo 10^{-6}, 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarının ortamında nifedipine varken oluşturduğu etkilliğin ortamda nifedipine yokken elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında, bu değerler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar bize 4-HAP'ın bu etkisinin L-tipi Ca^{+2} kanalları aracılığı ile gerçekleşebileceğini düşündürmektedir.

FE ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine U73122 varlığında 4-HAP'ın etkisi; İzole edilmiş endotelsiz aort halkası FE ile indüklenmeden 20 dk önce U73122 ile muamele edilip daha sonra 4-HAP 'ın 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozları kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Elde edilen cevaplar ortamda U73122 yokken alınan cevaplarla karşılaştırılarak değerlendirildi. U73122 fosfolipaz C inhibitörü olarak kullanıldı. α1-adrenoreseptörü uyarıldığında düz kas membranındaki G protein- fosfolipaz C yolu aktiflenir. Aktif haldeki fosfolipaz C; fosfotidilinositol bifosfat (PIP_2), inositol trifosfat (IP_3) ve diaçilgliserole (DAG) dönüştürülür. IP_3, endoplazmik retikulumdaki reseptörlere bağlanarak sitozole Ca^{+2} salınımına ve ekstrasellüler alandan hücre içine kalsiyum geçişini sağlayan hücre membranı üzerindeki Ca^{+2} kanallarının açılmasına neden olur.[138] Artan intrasellüler kalsiyum, kalmodulinle kompleks oluşturur. Bu kompleks myozin

hafif zincir kinaza (MLCK) bağlanarak enzimi aktive eder. Aktif MLCK, myozin hafif zincirini (MLC) fosforile ederek, aktin-myozin çapraz köprü oluşumuna neden olur ve kasılım başlar.[139-141] Kang YH. ve arkadaşlarınınyaptığı bir çalışmada Cinnamomi ramulus bitkisinin etanollü ekstraktının (CRE) vasodilalatör etkinliğinin mekanizmasını belirlemek amacı ile ortamda fosfolipaz C enzim inhibitörü olan U73122 varlığında FE ile indüklenmiş endotelsiz rat torasik aort halkalrının CRE' ye verdiği gevşeme yanıtlarının önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda CRE'nin vasodilalatör etkinliğinin fosfolipaz C enziminn rol aldığı düşünülmüştür.[137] Yaptığımız çalışmada vasorelaksan etkinliği olan 4- HAP'ın banyo 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozlarının ortamında U73122 varken oluşturduğu etkilliğin ortamda U73122 yokken elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında, bu değerler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar bize 4-HAP'ın bu etkisinin fosfolipaz C enzim aracılığı ile gerçekleştirmediğini düşündürmektedir.

KCI ile indüklenmiş in vitro endotelsiz rat torasik aortu kontraktilitesi üzerine 4-HAP'ın etkisi; Endotelsiz aort halkaları KCI (40 mM) ile uyarıldıktan sonra 4- HAP'ın 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M ve 10^{-2} M dozları banyo ortamına kümülatif uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Düz kas kontraksiyonları KCl ile indüklendiği zaman ortamda K^{+} yoğunluğunun artmasına bağlı olarak kas fiberlerinde depolarizasyon oluşur. Kas fiberlerinde meydana gelen depolarizasyon voltaja duyarlı L tipi Ca^{+2} kanallarının açılmasına sebep olur. Voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarının açılması aracılığı ile de ekstrasellüler alandan hücre içine Ca^{+2} girişi meydana gelmektedir.[131] Ayrıca hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak hücre içi Ca^{+2} depolarında ki Ca^{+2} serbest bırakılır.[132, 133] Bu olaylar sonucunda düz kasta kasılım meydana gelir. KCI ile oluşturulan kantraksiyonları 4-HAP'ın 10^{-6},10^{-5},10^{-4} M dozlarının gevşetici etkisi önemlilik arz etmezken, 10^{-3} ve 10^{-2} M dozlarının gevşetici etkisinin önemlilik arz ettiği belirlendi. KCI

ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas hakalarının ortamda TEA, glibenclamide, 4-aminopyridine, nifedipine, SKF96365 ve U73122 gibi çeşitli antagonistlerin varlığında 4-HAP uygulaması ile elde edilen gevşeme yanıtlarının kontrol gibi olduğu belirlenmiştir. KCI ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas hakalarının kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın 10^{-3} ve 10^{-2} M dozlarının gevşetici etkileri ortamda TEA, glibenclamide, 4-aminopyridine, nifedipine, SKF96365 ve U73122 gibi çeşitli antagonistlerin ayrı ayrı varlığında da değişmedi. 4-HAP'ın 10^{-3} ve 10^{-2} M dozlarının FE ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas kontraksiyonları üzerinede her bir antagonistin ayrı ayrı varlığında gevşetici etkinliğinin önemli ölçüde değişmediği görüldü. Bu durumun KCI'nin kullanılan dozundan kaynaklanacağı gibi kontraksiyon mekanizmasının faklılığından da kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ziziphora clinopoides Lam.(Kır nanesi) bitkisinin bir bileşeni olan 4-HAP'ın in vitro rat torasik aort düz kasları üzerine vasomotor etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada;

FE ve KCI ile indüklenmiş in vitro endotelli ve endotelsiz rat torasik aort halkalarının kontraksiyonları üzerine 4-HAP'ın vasodilatatör etkinliğinin mekanizması çeşitli antagonistler kullanılarak ilk kez çalışılmıştır.

4-HAP'ın vasodilalatör etkinliğinin mekanizmasının belirlenmesi gelecekte aort ve kardiovasküler sistem ile ilgili hipertansiyon, hipotansiyon ve dolaşım sistemi dinamiğinin fizyopatolojik olaylarında ve ilgili dokularda hücresel bazda gelişen biyomoleküler mekanizmalar ve bu olaylarda görev alan genetik ve moleküler materyallerin karekteristikleri gibi alanlarda yapılacak çalışmalara katkı sağlamak açısından elde edilen bulgular faydalı olacaktır. 4-HAP'ın ilgili dokularda göstermiş olduğu biyolojik etkinliğin ayrıntılarının ortaya çıkarılması; 4-HAP ile ilgili yapılacak olan bir takım tıbbi uygulamar için de yol gösterici olacaktır.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre;

4-HAP'ın 10^{-6}, 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarının FE ile indüklenmiş endotelli aort düz kas dokusunda bir nitrik oksit sentetaz enzim inhibitörü olan L-NAME varlığında vasodilatatör etkisinin önemli ölçüde baskılandığı gözlemlenmiştir. Bu durum 4-HAP'ın vasodilatatör etkisinin nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

4-HAP'ın 10^{-6}, 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarının FE ile indüklenmiş endotelsiz aort düz kas dokusunda voltaja duyarlı K kanal antagonisti olan 4-aminopyridine varlığında vasodilatatör etkisinin önemli ölçüde baskılandığı gözlemlenmiştir. Yine L-tipi Ca kanal antagonisti olan Nifedipin varlığında vasodilatatör etkisinin önemli ölçüde baskılandığı

belirlenmiştir. Bu durum 4-HAP'ın vasodilatatör etkisinin hem voltaja duyarlı K^+ kanal hemde L-tipi voltaja duyarlı Ca^{+2} kanalları aracılığı ile olduğunu düşündürmüştür.

Hipertansiyon bütün dünyada yaygın bir halk sağlığı sorunu olup, dünyada yetişkin popülasyonun üçte birinde görüldüğü ve ölümlerin yaklaşık olarak %13'nün hipertansiyon kaynaklı olduğu rapor edilmiştir. Ülkemizde her 4 ölümden 1'nin nedeni hipertansiyon olarak bildirilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde hipertansiyon oranı 1988-1994 yılları arasında %27 iken, bu oran 2007-2010 yılları arasında %52'ye yükselmiştir. Küresel olarak 2001 yılında kan basıncı kontrolü maliyetinin 370 milyar dolar olduğu, bunun dünyadaki tüm sağlık harcamalarının %10 'una denk geldiği belirtilmiştir. İnternational Marketing Research Health (IMS) Türkiye`nin verilerinde Türkiye'de 2000 yılında 200 milyon dolar olan antihipertansif ilaç pazarı, 2005 yılında üç kat artarak 600 milyon dolara ulaştığı bildirilmiştir. Prevalansı, mortalite oranı ve maliyeti bu kadar yüksek olan hipertansiyonun tedavisi ve maliyetin düşürülmesi için çeşitli arayışlara gidilmiştir. Yaptığımız çalışmada elde edilen bulgulara ilavaten ilerde yapılacak çalışmalarlada 4-HAP'ın hipertansiyonda kullanımının hipertansiyondan kaynaklı ölümleri azaltmada ve hipertansiyon tedavisi için harcamaların önüne geçilmesinde etkin olacağı düşünülmektedir.

Ayrıca elde edilen bulguların bu alanda literatüre önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. İlçim A, Dığrak M, Bağcı E. Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, 1998, 22: 119-125.

2. Oganesvan G, Galstyan A, Mnatsakanyan V, Paronikyan R, Ter-Zakharyan YZ. Phenolic and flavonoid compounds of Ziziphora clinopodioides. *Chemistry of Natural Compounds*, 1991, 27: 247-247.

3. Senejoux F, Demougeot C, Kerram P, Aisa HA, Berthelot A, Bévalot F, Girard-Thernier C. Bioassay-guided isolation of vasorelaxant compounds from Ziziphora clinopodioides Lam.(Lamiaceae). *Fitoterapia*, 2012, 83: 377-382.

4. Yang X-j, LI N, Mand D-l, LI W, LI X. Isolation and identification of constituents from Ziziphora clinopodioides Lam.[J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, 2008, 6: 009.

5. Turan N, Öztürk A, Kaya N. Hemşirelikte yeni bir sorumluluk alanı: Tamamlayıcı terapi. *Maltepe Üniversitesi Hemşirelik Bilim ve Sanatı Dergisi*, 2010, 3: 93-8.

6. Kav S, Hanoğlu Z, Algier L. Türkiyede Kanserli Hastalarda Tamamlayıcı ve Alternatif Tedavi Yöntemlerinin Kullanım 2008.

7. Overman V. National Center for Complementary and Alternative Medicine. *International Journal of Dental Hygiene*, 2008, 6: 74-74.

8. Kaya A, Dirmenci T. Nutlet morphology of Turkish Ziziphora L.(Lamiaceae). *Plant Biosystems-An International Journal Dealing With all Aspects of Plant Biology*, 2012, 146: 560-563.

9. Davis PH, Mill R, Tan K. *Flora of Turkey and the east Aegean islands*. Baskı. Edinburgh University Press, 1988.

10. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed M, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2010: 63-79.

11. Sonboli A, Mirjalili MH, Hadian J, Ebrahimi SN, Yousefzadi M. Antibacterial activity and composition of the essential oil of Ziziphora clinopodioides subsp. bungeana (Juz.) Rech. f. from Iran. *Z Naturforsch [C]*, 2006, 61: 677-80.

12. Salehi P, Sonboli A, Eftekhar F, Nejad-Ebrahimi S, Yousefzadi M. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of Ziziphora clinopodioides subsp. rigida (BOISS.) RECH. f. from Iran. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2005, 28: 1892-1896.

13. Ozturk S, Ercisli S. Antibacterial activity and chemical constitutions of Ziziphora clinopodioides. *Food Control*, 2007, 18: 535-540.

14. Behravan J, Ramezani M, Hassanzadeh M, Eskandari M, Kasaian J, Sabeti Z. Composition, antimycotic and antibacterial activity of Ziziphora clinopodioides Lam. essential oil from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2007, 10: 339-345.

15. Ghafari H, Yasa N, Mohammadirad A, Dehghan G, Zamani M, Nikfar S, Khorasani R, Minaie B, Abdollahi M. Protection by Ziziphora clinopoides of acetic acid-induced toxic bowel inflammation through reduction of cellular lipid peroxidation and myeloperoxidase activity. *Human and Experimental Toxicology*, 2006, 25: 325-332.

16. Yang W-J, Liu C, Gu Z-Y, Zhang X-Y, Cheng B, Mao Y, Xue G-P. Protective effects of acacetin isolated from Ziziphora clinopodioides Lam.(Xintahua) on neonatal rat cardiomyocytes. *Chinese Medicine*, 2014, 9: 28.

17. Nicholas C, Batra S, Vargo MA, Voss OH, Gavrilin MA, Wewers MD, Guttridge DC, Grotewold E, Doseff AI. Apigenin blocks lipopolysaccharide-induced lethality in vivo and proinflammatory cytokines expression by inactivating NF-κB through the suppression of p65 phosphorylation. *The Journal of Immunology*, 2007, 179: 7121-7127.

18. Gerritsen ME, Carley WW, Ranges GE, Shen C-P, Phan SA, Ligon GF, Perry CA. Flavonoids inhibit cytokine-induced endothelial cell adhesion protein gene expression. *The American Journal of Pathology*, 1995, 147: 278.

19. Capasso A, Pinto A, Sorrentino R, Capasso F. Inhibitory effects of quercetin and other flavonoids on electrically-induced contractions of guinea pig isolated ileum. *Journal of Ethnopharmacology*, 1991, 34: 279-281.

20. Han J-Y, Ahn S-Y, Kim C-S, Yoo S-K, Kim S-K, Kim H-C, Hong JT, Oh K-W. Protection of apigenin against kainate-induced excitotoxicity by anti-oxidative effects. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2012, 35: 1440-1446.

21. Cos P, Ying L, Calomme M, Hu JP, Cimanga K, Van Poel B, Pieters L, Vlietinck AJ, Berghe DV. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, 1998, 61: 71-76.

22. Sui H, Zhi Y, Liu H, Gao P, Xu H, Yan W. [Endothelium-dependent vasorelaxation effects induced by apigenin on the thoracic aorta of rats and its possible mechanism]. *Wei Sheng Yan Jiu Journal of Hygiene Research*, 2011, 40: 416-9, 422.

23. Senejoux F, Girard C, Kerram P, Aisa HA, Berthelot A, Bévalot F, Demougeot C. Mechanisms of vasorelaxation induced by Ziziphora clinopodioides

Lam.(Lamiaceae) extract in rat thoracic aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, 2010, 132: 268-273.

24. Villar IC, Vera R, Galisteo M, O'Valle F, Romero M, Zarzuelo A, Duarte J. Endothelial nitric oxide production stimulated by the bioflavonoid chrysin in rat isolated aorta. *Planta Medica*, 2005, 71: 829.

25. Senejoux F, Girard-Thernier C, Berthelot A, Bévalot F, Demougeot C. New insights into the mechanisms of the vasorelaxant effects of apocynin in rat thoracic aorta. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 2013, 27: 262-270.

26. Chu Y-H, Chen C-J, Wu S-H, Hsieh J-F. Inhibition of xanthine oxidase by Rhodiola crenulata extracts and their phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62: 3742-3749.

27. Jo YH, Kim SB, Ahn JH, Liu Q, Hwang BY, Lee MK. Inhibitory activity of benzophenones from Anemarrhena asphodeloides on pancreatic lipase. *Natural Product Communications*, 2013, 8: 481-483.

28. Li X, Hu X, Dai Z, Zhang Y, Liang H, Lin R. [Study on chemical constituents of Carthamus tinctorius]. *Zhong yao cai Zhongyaocai Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2012, 35: 1616-1619.

29. Li W, Zhao L-C, Sun Y-S, Lei F-J, Wang Z, Gui X-B, Wang H. Optimization of pressurized liquid extraction of three major Acetophenones from Cynanchum bungei using a box-behnken design. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13: 14533-14544.

30. Riaz N, Naveed MA, Saleem M, Jabeen B, Ashraf M, Ejaz SA, Jabbar A, Ahmed I. Cholinesterase inhibitory constituents from Ficus bengalensis. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2012, 14: 1149-1155.

31. Quispe C, Viveros-Valdez E, Schmeda-Hirschmann G. Phenolic constituents of the Chilean herbal tea Fabiana imbricata R. et P. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2012, 67: 242-246.

32. Schmeda-Hirschmann G, Tapia A, Theoduloz C, Rodriguez J, Lopez S, Feresin GE. Free radical scavengers and antioxidants from Tagetes mendocina. *Zeitschrift fur Naturforschung C-Journal of Biosciences*, 2004, 59: 345-353.

33. Dawa Z, Zhou Y, Bai Y, Gesang S, Xie P, Ding L. [Studies on chemical constituents of Saussurea laniceps]. *Zhongguo Zhong yao za zhi Zhongguo zhongyao zazhi China journal of Chinese Materia Medica*, 2008, 33: 1032-1035.

34. Kalinova J, Vrchotova N, Triska J. Exudation of allelopathic substances in buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55: 6453-6459.

35. Mahagita C, Tanphichai K, Suksamrarn A, Ballatori N, Piyachaturawat P. 4-Hydroxyacetophenone-induced choleresis in rats is mediated by the Mrp2-dependent biliary secretion of its glucuronide conjugate. *Pharmaceutical Research*, 2006, 23: 2603-2610.

36. www.slideshare.net/prettygirll/histofizyo-özet 08.06.2015

37. Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology: Enhanced E-book*. Baskı. Elsevier Health Sciences, 2010.

38. Murphy R. Special topic: contraction in smooth muscle cells. *Annual Review of Physiology*, 1989, 51: 275-283.

39. Somlyo AP, Himpens B. Cell calcium and its regulation in smooth muscle. *The FASEB Journal*, 1989, 3: 2266-2276.

40. Ebashi S. Excitation-contraction coupling and the mechanism of muscle contraction. *Annual Review of Physiology*, 1991, 53: 1-17.

41. Dillon PF, Aksoy MO, Driska SP, Murphy RA. Myosin phosphorylation and the cross-bridge cycle in arterial smooth muscle. *Science*, 1981, 211: 495-497.

42. www.austincc.edu/rfafi/NursingRvw/PhysText/muscle.html. 07.05.2015

43. NA, Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji H. Meteksan Anonim Şirketi. 2004.

44. Raj U, Shimoda L. Oxygen-dependent signaling in pulmonary vascular smooth muscle. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2002, 283: L671-L677.

45. A Ş. İnsan Embriyolojisi: Ankara, Tıp ve Teknik Yayıncılık, 1998: 416-417.

46. H K. İnsan Embriyolojisi: İstanbul, Taş Matbaası, 1984: 110-117.

47. Lüscher TF. Endothelium-derived vasoactive factors and regulation of vascular tone in human blood vessels. *Lung*, 1990, 168: 27-34.

48. Lüscher TF, Richard V, Tschudi M, Yang Z, Boulanger C. Endothelial control of vascular tone in large and small coronary arteries. *Journal of the American College of Cardiology*, 1990, 15: 519-527.

49. Munro JM. Endothelial-leukocyte adhesive interactions in inflammatory diseases. *European Heart Journal*, 1993, 14: 72-77.

50. Martinez-Lemus LA. The dynamic structure of arterioles. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 2012, 110: 5-11.

51. Risler N, Castro C, Cruzado M, González S, Miatello R. Proteoglycans production by aortic vascular smooth muscle cells from hypertensive rats. *Bıocell-Mendoza-*, 2003, 27: 189-196.

52. Castro CM, Cruzado MC, Miatello RM, Risler NR. Proteoglycan production by vascular smooth muscle cells from resistance arteries of hypertensive rats. *Hypertension*, 1999, 34: 893-896.

53. Schwartz SM, Heimark RL, Majesky MW. Developmental mechanisms underlying pathology of arteries. *Physiological Reviews*, 1990, 70: 1177-1209.

54. Hobara N, Nakamura A, Ohtsuka A, Narasaki M, Shibata K, Gomoita Y, Kawasaki H. Distribution of adrenomedullin-containing perivascular nerves in the rat mesenteric artery. *Peptides*, 2004, 25: 589-599.

55. Gartner LP HJ. Color Textbook of Histology: Philadelphia, Pennsylvania, 1997.

56. İV O. Anatomi Ders Kitabı II : Ankara, Elif Matbaacılık, 1979: 426-428.

57. G G. Sistemik Anatomi: İzmir, Güven Kitabevi, 2003: 311-320.

58. A Ç. Anatomi: Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1991.

59. EC G. Anatomy of the Rat: Philadelphia, Hafner Publishing Compan, 1963: 197-198.

60. http://www.ukconsultantcardiologist.co.uk/aortic_diseases.htm. 05.03.2015.

61. Griffith T. Modulation of blood flow and tissue perfusion by endothelium-derived relaxing factor. *Experimental Physiology*, 1994, 79: 873-913.

62. Feener EP, King GL. The biochemical and physiological characteristics of receptors. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1998, 29: 197-213.

63. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Basic and Clinical Pharmacology. 2004.

64. Rasmussen H, Takuwa Y, Park S. Protein kinase C in the regulation of smooth muscle contraction. *The FASEB Journal*, 1987, 1: 177-185.

65. Wessler I, Kirkpatrick C. Acetylcholine beyond neurons: the non-neuronal cholinergic system in humans. *British Journal of Pharmacology*, 2008, 154: 1558-1571.

66. Zarghooni S, Wunsch J, Bodenbenner M, Brüggmann D, Grando SA, Schwantes U, Wess J, Kummer W, Lips KS. Expression of muscarinic and nicotinic

acetylcholine receptors in the mouse urothelium. *Life Sciences*, 2007, 80: 2308-2313.

67. Gericke A, Sniatecki JJ, Mayer VG, Goloborodko E, Patzak A, Wess J, Pfeiffer N. Role of M1, M3, and M5 muscarinic acetylcholine receptors in cholinergic dilation of small arteries studied with gene-targeted mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2011, 300: H1602-H1608.

68. Colden-Stanfield M, Schilling WP, Ritchie AK, Eskin SG, Navarro LT, Kunze DL. Bradykinin-induced increases in cytosolic calcium and ionic currents in cultured bovine aortic endothelial cells. *Circulation Research*, 1987, 61: 632-640.

69. Sage S, Adams D, Van Breemen C. Synchronized oscillations in cytoplasmic free calcium concentration in confluent bradykinin-stimulated bovine pulmonary artery endothelial cell monolayers. *Journal of Biological Chemistry*, 1989, 264: 6-9.

70. Baron A, Frieden M, Chabaud F, Bény J-L. Ca (2+)-dependent non-selective cation and potassium channels activated by bradykinin in pig coronary artery endothelial cells. *The Journal of Physiology*, 1996, 493: 691-706.

71. Homayoun P, Harik SI. Bradykinin receptors of cerebral microvessels stimulate phosphoinositide turnover. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 1991, 11: 557-566.

72. Dickenson JM, Bulmer S, Whittaker A, Salwey M, Hawley J, Hill SJ. Bradykinin B 2-and 5-hydroxytryptamine (5-HT 2)-receptor stimulated increases in intracellular calcium in cultured guinea-pig aortic smooth muscle cells. *Biochemical Pharmacology*, 1994, 47: 947-952.

73. Sun Y, Diaz-Arias A, Weber K. Angiotensin-converting enzyme, bradykinin, and angiotensin II receptor binding in rat skin, tendon, and heart valves: an in vitro,

quantitative autoradiographic study. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1994, 123: 372-377.

74. Kasel AM, Faußner A, Pfeifer A, Müller U, Werdan K, Roscher AA. B2 bradykinin receptors in cultured neonatal rat cardiomyocytes mediate a negative chronotropic and negative inotropic response. *Diabetes*, 1996, 45: S44-S50.

75. Gimbrone Jr M. Culture of vascular endothelium. *Progress in Hemostasis and Thrombosis*, 1976, 3: 1.

76. Villar I, Francis S, Webb A, Hobbs A, Ahluwalia A. Novel aspects of endothelium-dependent regulation of vascular tone. *Kidney International*, 2006, 70: 840-853.

77. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 1980, 288: 373-376.

78. Murphy ME, Brayden JE. Apamin-sensitive K+ channels mediate an endothelium-dependent hyperpolarization in rabbit mesenteric arteries. *The Journal of Physiology*, 1995, 489: 723-734.

79. Matsuo H, Okamoto R, Zaima K, Hirasawa Y, Ismail IS, Lajis NH, Morita H. New vasorelaxant indole alkaloids, villocarines A–D from Uncaria villosa. *Bioorganic nad Medicinal Chemistry*, 2011, 19: 4075-4079.

80. Flavahan NA, Vanhoutte PM. Endothelial cell signaling and endothelial dysfunction. *American Journal of Hypertension*, 1995, 8: 28S-41S.

81. Palmer R. Nitric oxide release accounts for the biological activity of. *Nature*, 1987, 327: 525.

82. Palmer RM, Moncada S. A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1989, 158: 348-352.

83. Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*, 1994, 23: 1121-1131.

84. Ostrom RS, Insel PA. The evolving role of lipid rafts and caveolae in G protein-coupled receptor signaling: Implications for molecular pharmacology. *British Journal of Pharmacology*, 2004, 143: 235-245.

85. Chini B, Parenti M. G-protein-coupled receptors, cholesterol and palmitoylation: facts about fats. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2009, 42: 371-379.

86. Tunçtan B, Altug S, Uludag O, Demirkay B, Abacioglu N. Effects of cyclooxygenase inhibitors on nitric oxide production and survival in a mice model of sepsis. *Pharmacological Research*, 2003, 48: 37-48.

87. Moncada S, Palmer R, Higgs E. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 1991, 43: 109-142.

88. Venema RC, Sayegh HS, Arnal J-F, Harrison DG. Role of the enzyme calmodulin-binding domain in membrane association and phospholipid inhibition of endothelial nitric oxide synthase. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270: 14705-14711.

89. Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiological Reviews*, 1999, 79: 1193-1226.

90. Mehta JL, Nicolini FA, Donnelly WH, Nichols WW. Platelet-leukocyte-endothelial interactions in coronary artery disease. *The American Journal of Cardiology*, 1992, 69: B8-B13.

91. Li H, Son YK, Na SH, Jung W-K, Bae YM, Seo EY, Kim SJ, Choi I-W, Park WS. Cilostazol induces vasodilation through the activation of Ca 2+-activated K+ channels in aortic smooth muscle. *Vascular Pharmacology*, 2015.

92. Burgoyne JR, Eaton P. Oxidant sensing by protein kinases a and g enables integration of cell redox state with phosphoregulation. *Sensors*, 2010, 10: 2731-2751.

93. Gees M, Colsoul B, Nilius B. The role of transient receptor potential cation channels in Ca^{2+} signaling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2010, 2:3962.

94. Albert AP. Gating mechanisms of canonical transient receptor potential channel proteins: role of phosphoinositols and diacylglycerol. İçinde:*Transient Receptor Potential Channels*, Springer, 2011: 391-411.

95. Sperelakis N, Ohya Y. Cyclic nucleotide regulation of Ca2+ slow channels and neurotransmitter release in vascular muscle. *Progress in Clinical and Biological Research*, 1990, 327: 277.

96. Nelson MT, Quayle JM. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 1995, 37: C799.

97. Ko EA, Han J, Jung ID, Park WS. Physiological roles of K+ channels in vascular smooth muscle cells. *Journal of Smooth Muscle Research*, 2008, 44: 65-81.

98. Baron A, Frieden M, Chabaud F, Beny J. Ca (2+)-dependent non-selective cation and potassium channels activated by bradykinin in pig coronary artery endothelial cells. *The Journal of Physiology*, 1996, 493: 691-706.

99. Brayden JE. Functional roles of KATP channels in vascular smooth muscle. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2002, 29: 312-316.

100. Adams DJ. Ionic channels in vascular endothelial cells. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 1994, 4: 18-26.

101. Stirban A, Rösen P, Tschoepe D. Complications of type 1 diabetes: new molecular findings. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine*, 2008, 75: 328-351.

102. Allahverdian S, Pannu PS, Francis GA. Contribution of monocyte-derived macrophages and smooth muscle cells to arterial foam cell formation. *Cardiovascular Research*, 2012: cvs094.

103. Watts G, Playford D. Dyslipoproteinaemia and hyperoxidative stress in the pathogenesis of endothelial dysfunction in non-insulin dependent diabetes mellitus: an hypothesis. *Atherosclerosis*, 1998, 141: 17-30.

104. Panza JA, García CE, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, Cannon RO. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension evidence that nitric oxide abnormality is not localized to a single signal transduction pathway. *Circulation*, 1995, 91: 1732-1738.

105. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME, Gallagher SJ, Coleman SM, Loscalzo J, Dzau VJ. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *Journal of Clinical Investigation*, 1990, 86: 228.

106. Anderson TJ, Meredith IT, Charbonneau F, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P. Endothelium-dependent coronary vasomotion relates to the susceptibility of LDL to oxidation in humans. *Circulation*, 1996, 93: 1647-1650.

107. Steinberg HO, Tarshoby M, Monestel R, Hook G, Cronin J, Johnson A, Bayazeed B, Baron AD. Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation. *Journal of Clinical Investigation*, 1997, 100: 1230.

108. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2010, 33: S62-S69.

109. Alberti K, Zimmet Pf. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine*, 1998: 539-53.

110. Bucala R, Makita Z, Koschinsky T, Cerami A, Vlassara H. Lipid advanced glycosylation: pathway for lipid oxidation in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1993, 90: 6434-6438.

111. Rodriguez-Manas L, Angulo J, Vallejo S, Peiro C, Sanchez-Ferrer A, Cercas E, Lopez-Doriga P, Sanchez-Ferrer C. Early and intermediate Amadori glycosylation adducts, oxidative stress, and endothelial dysfunction in the streptozotocin-induced diabetic rats vasculature. *Diabetologia*, 2003, 46: 556-566.

112. Qu Z, Zhang J, Gao W, Chen H, Guo H, Wang T, Li H, Liu C. Vasorelaxant effects of Cerebralcare Granule sup are mediated by NO/cGMP pathway, potassium channel opening and calcium channel blockade in isolated rat thoracic aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 155: 572-579.

113. Ozturk S, Ercisli S. Antibacterial activity and chemical constitutions of Ziziphora clinopodioides. *Food Control*, 2007, 18: 535-540.

114. Meral GE, Konyalioglu S, Ozturk B. Essential oil composition and antioxidant activity of endemic Ziziphora taurica subsp. cleonioides. *Fitoterapia*, 2002, 73: 716-718.

115. Kim D-C, Rho S-H, Shin J-C, Park HH, Kim D. Inhibition of melanogenesis by 5, 7-dihydroxyflavone (chrysin) via blocking adenylyl cyclase activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 411: 121-125.

116. Ajay M, Gilani A-uH, Mustafa MR. Effects of flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta. *Life Sciences*, 2003, 74: 603-612.

117. Carballo-Villalobos A, González-Trujano M, López-Muñoz F. Evidence of mechanism of action of anti-inflammatory/antinociceptive activities of acacetin. *European Journal of Pain*, 2014, 18: 396-405.

118. Ruzycky A, Morgan KG. Involvement of the protein kinase C system in calcium-force relationships in ferret aorta. *British Journal of Pharmacology*, 1989, 97: 391-400.

119. Meissner G. Ryanodine receptor/Ca2+ release channels and their regulation by endogenous effectors. *Annual Review of Physiology*, 1994, 56: 485-508.

120. Qu Z, Zhang J, Gao W, Chen H, Guo H, Wang T, Li H, Liu C. Vasorelaxant effects of Cerebralcare Granule are mediated by NO/cGMP pathway, potassium channel opening and calcium channel blockade in isolated rat thoracic aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 155: 572-579.

121. Alexander SP, Mathie A, Peters JA. Guide to receptors and channels (GRAC). *British Journal of Pharmacology*, 2011, 164: S1-S2.

122. Murray KJ. Cyclic AMP and mechanisms of vasolidation. *Pharmacology and Therapeutics*, 1990, 47: 329-345.

123. Flacco N, Segura V, Perez-Aso M, Estrada S, Seller J, Jiménez-Altayó F, Noguera M, D'Ocon P, Vila E, Ivorra M. Different β-adrenoceptor subtypes coupling to cAMP or NO/cGMP pathways: implications in the relaxant response of rat conductance and resistance vessels. *British Journal of Pharmacology*, 2013, 169: 413-425.

124. Vanhoutte PM. Endothelial adrenoceptors. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2001, 38: 796-808.

125. Wang TT, Zhou GH, Kho JH, Sun YY, Wen JF, Kang DG, Lee HS, Cho KW, Jin SN. Vasorelaxant action of an ethylacetate fraction of Euphorbia humifusa involves NO-cGMP pathway and potassium channels. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 148: 655-663.

126. Jin SN, Wen JF, Wang TT, Kang DG, Lee HS, Cho KW. Vasodilatory effects of ethanol extract of Radix Paeoniae Rubra and its mechanism of action in the rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 142: 188-193.

127. Sand A, Andersson E, Fried G. Nitric oxide donors mediate vasodilation in human placental arteries partly through a direct effect on potassium channels. *Placenta*, 2006, 27: 181-190.

128. Pantan R, Onsa-ard A, Tocharus J, Wonganan O, Suksamrarn A, Tocharus C. Endothelium-independent vasorelaxation effects of 16-O-acetyldihydroisosteviol on isolated rat thoracic aorta. *Life Sciences*, 2014, 116: 31-36.

129. Chen H, Li S, Wang P, Yan S, Hu L, Pan X, Yang C, Leung GP. Endothelium-dependent and-independent relaxation of rat aorta induced by extract of Schizophyllum commune. *Phytomedicine*, 2014, 21: 1230-1236.

130. Turcato S, Clapp LH. Effects of the adenylyl cyclase inhibitor SQ22536 on iloprost-induced vasorelaxation and cyclic AMP elevation in isolated guinea-pig aorta. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 126: 845-847.

131. Karaki H, Ozaki H, Hori M, Mitsui-Saito M, Amano K-I, Harada K-I, Miyamoto S, Nakazawa H, Won K-J, Sato K. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacological Reviews*, 1997, 49: 157-230.

132. Anderson K-E. Pharmacology of lower urinary tract smooth muscles and penile erectile tissues. *Pharmacological Reviews*, 1993, 45: 253-308.

133. Damaser MS, Kim K-B, Longhurst PA, Wein AJ, Levin RM. Calcium regulation of urinary bladder function. *The Journal of Urology*, 1997, 157: 732-738.

134. Silva M, Ribeiro FP, Medeiros MA, Sampaio PA, Silva Y, Silva MT, Quintans JS, Quintans-Júnior LJ, Ribeiro LA. The Vasorelaxant Effect of p-Cymene in Rat Aorta Involves Potassium Channels. *The Scientific World Journal*, 2015, 2015.

135. Albert A, Saleh S, Peppiatt-Wildman C, Large W. Multiple activation mechanisms of store-operated TRPC channels in smooth muscle cells. *The Journal of Physiology*, 2007, 583: 25-36.

136. Bito V, Heinzel FR, Biesmans L, Antoons G, Sipido KR. Crosstalk between L-type Ca2+ channels and the sarcoplasmic reticulum: alterations during cardiac remodelling. *Cardiovascular Research*, 2008, 77: 315-324.

137. Kang YH, Shin HM. Cinnamomi ramulus Ethanol Extract Exerts Vasorelaxation through Inhibition of Influx and Release in Rat Aorta. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 2012.

138. Himpens B, Missiaen L, Casteels R. Ca2+ homeostasis in vascular smooth muscle. *Journal of Vascular Research*, 1995, 32: 207-219.

139. Chitaley K, Webb R, Mills T. Rho-kinase as a potential target for the treatment of erectile dysfunction. *Drug News Perspect*, 2001, 14: 601-606.

140. Chitaley K, Webb R, Mills T. RhoA/Rho-kinase: a novel player in the regulation of penile erection. *International Journal of Impotence Research*, 2001, 13: 67-72.

141. Cellek S, Rees RW, Kalsi J. A Rho-kinase inhibitor, soluble guanylate cyclase activator and nitric oxide-releasing PDE5 inhibitor: novel approaches to erectile dysfunction. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2002, 11: 1563-1573.

EKLER

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	: Volkan GELEN
Doğum tarihi	: 16.07.1988
Doğum yeri	: Selim / KARS
Medeni hali	: Bekâr
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM
Tel	: 0442 236 55 46- 0538 203 87 44
Faks	: 0442 236 00 00
E-mail	: gelen_volkan@hotmail.com
Eğitim	
Lise	: Selim Lisesi (2003-2005)
Lisans	: Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2006-2011)
Doktora	: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı (2011- 2015)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	: Orta derecede (ÜDS 65.00)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	
Kitap okumak, doğa yürüyüşü, koşu yapmak ve ata binmek	

EK-2 ETİK KURUL ONAY FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-**25**
Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

24.02.2014
ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 25.12.2013 tarih ve 36643897-1103 sayılı yazınız.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Fikret ÇELEBİ'nin yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuarında yürütülecek olan **"Rat Thorasic Aortunun Vasomotor Aktivitesi Üzerine *4-Hydroxyacetophenone*'un Etkilerinin İnvitro Araştırılması"** başlıklı araştırma tezi çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 20.02.2014 tarih ve 1 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 13 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma tezi çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Veteriner Fakültesi Dekanlığı
Gelen Evrak 243
25.2.2014

Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan

Toplantı Tarihi : 20.02.2014
Toplantı Sayısı : 1
KARAR N0 : **13-** Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Fikret ÇELEBİ'nin yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuarında yürütülecek olan **"Rat Thorasic Aortunun Vasomotor Aktivitesi Üzerine *4-Hydroxyacetophenone*'un Etkilerinin İnvitro Araştırılması"** başlıklı araştırma tezi çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 25.12.2013 tarih ve 36643897-1103 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM
Telefon : 0-442-231 47 30 **Fax** : 0-442-231 55 63 **e-mail:** hadyek@atauni.edu.tr