

Bazal Vasküler Tonusun Düzenlenmesinde Rol Alan Mekanizmaların Sıçan Torasik Aort Modelinde İncelenmesi

Serdar ŞAHİNTÜRK, Naciye İŞBİL

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Bu çalışmada, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS)/nitrik oksit (NO), siklooksijenaz (COX), AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK), mitojen ile aktive edilen protein kinaz (MAPK) ve apelin reseptörü (APJ) sinyal ileti yolları ile potasyum kanallarının vasküler tonus üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Wistar Albino erkek sıçanların torasik aortlarından elde edilen 4 mm'lik damar halkaları izole organ banyosu sistemine yerleştirildi. Damar gerimi 1 gram olarak ayarlandı. Sinyal ileti yollarının ve potasyum kanallarının bazal damar tonusu üzerindeki etkilerini belirlemek için 1 saatlik dengeleme periyodunu takiben inhibitör madde uygulamaları yapıldı. İnhibitör madde uygulamalarından önceki ve sonraki periyotlardaki gerim değerleri kaydedildi. N ω -Nitro-L-arginin metil ester ve tetraetilamonyum uygulamaları bazal damar gerim değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artışa neden oldu (sırasıyla: $p < 0,001$; $p < 0,05$). İndometazin ve dorsomorfın uygulamaları bazal damar gerim değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya neden oldu ($p < 0,05$). F13A ve U0126 uygulamaları bazal damar gerim değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişikliğe neden olmadı. Bu çalışmanın verileri eNOS/NO, COX ve AMPK sinyal ileti yolları ile potasyum kanallarının bazal vasküler tonus regülasyonunda önemli birer etken olduğunu göstermektedir. Buna karşın MAPK ve APJ sinyal ileti yollarının sıçan torasik aortundaki bazal vasküler tonus düzenlenmesinde önemli birer faktör olmadığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: AMPK. COX. NO. Potasyum kanalı. Vasküler tonus.

Investigation of Mechanisms Involved in the Regulation of Basal Vascular Tone in a Rat Thoracic Aortic Model

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the effect of endothelial nitric oxide synthase (eNOS)/nitric oxide (NO), cyclooxygenase (COX), AMP-activated protein kinase (AMPK), mitogen-activated protein kinase (MAPK), and apelin receptor (APJ) signal-transducing pathways and potassium channels on vascular tone. 4 mm vascular rings obtained from the thoracic aorta of Wistar Albino male rats were placed in the isolated organ bath system. Vascular tension was adjusted to 1 gram. To determine the effects of signal-transducing pathways and potassium channels on basal vessel tone, inhibitors were administered after a 1-hour equilibration period. The tension values in the periods before and after the inhibitor application were recorded. N ω -Nitro-L-arginine methyl ester and tetraethylammonium administrations caused a statistically significant increase in basal vascular tension values (in order: $p < 0.001$; $p < 0.05$). Indomethacin and dorsomorphin administrations caused a statistically significant decrease in basal vascular tension values ($p < 0.05$). F13A and U0126 administrations didn't cause a statistically significant change in basal vascular tension values. The data of this study show that eNOS/NO, COX, and AMPK signal-transducing pathways and potassium channels have significant effects on the regulation of basal vascular tone. On the other hand, it is thought that MAPK and APJ signaling pathways aren't important factors in the regulation of basal vascular tone in the rat thoracic aorta.

Key Words: AMPK. COX. NO. Potassium channel. Vascular tone.

Geliş Tarihi: 01.Ekim.2021

Kabul Tarihi: 01.Aralık.2021

Dr. Serdar ŞAHİNTÜRK
Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı,
Bursa.
Tel: 0224 295 40 22/30
E-posta: ssahinturk@uludag.edu.tr

Yazarların ORCID Bilgileri:

Serdar ŞAHİNTÜRK: 0000-0002-7612-0055
Naciye İŞBİL: 0000-0002-8792-2555

Damar tonusu bir vasküler yapının maksimum genişlemiş durumuna kıyasla o andaki kasılma derecesini ifade etmektedir. Her bir damar yatağının uyarılmamış durumdaki damar gerimi ise bazal damar tonusu olarak tanımlanabilir. Damar tonusu doku kan akımının düzenlenmesini sağlayan çok sayıdaki ekstresek ve intrinsek faktörün karşılıklı ve sürekli etkileşimi ile düzenlenmektedir. Ekstresek faktörler nöral ve hü-moral etkenlerden oluşmaktadır. İntrensek faktörler ise doku faktörleri, parakrin hormonlar, endotelial ve miyojenik mekanizmaları kapsamaktadır. Nitrik oksit (NO), atrial natriüretik peptid ve prostaglandin I₂ (PGI₂) gibi bazı faktörler damar geriminin azalmasına ve damarın genişlemesine yani vazodilatasyona neden

olurken, fenilefrin, anjiyotensin II, tromboksan A₂ (TxA₂) ve serotonin gibi diğer bazı faktörler damar gerimini artırarak damarın daralmasına yani vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Öte yandan sempatik sinir sisteminin aktivasyonu genellikle vazokonstriksiyona buna karşın hipoksi ise vazodilatasyona neden olmaktadır. Histamin ve bradikinin gibi bazı faktörler ise damar gerimini artırıcı veya azaltıcı etki gösterebilmektedir^{1,2}.

Vasküler tonus düzenleyici faktörler sonuç olarak damar düz kas hücrelerindeki aktin-miyozin etkileşimini düzenlemek için çeşitli sinyal yollarının aktivitelerini değiştirerek etkilerini göstermektedir. Bu sinyal ileti yollarının bazı ilaçlarla aktive veya inhibe edilmesi kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir yöntem olduğundan vasküler fonksiyonlarla ilişkili sinyal mekanizmalarının anlaşılması ve her bir damar yatağındaki olası rollerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Daha önceki çalışmalarda birçok vazoaaktif maddenin meydana getirdiği vasküler kasılma ve gevşeme yanıtlarında endotelial NO sentaz (eNOS)/NO, mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK), adozin monofosfat ile aktive olan protein kinaz (AMPK), siklooksijenaz (COX) ve apelin reseptörü (APJ) sinyal ileti yolları ile potasyum kanallarının rol oynadığı belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda elde edilen veriler vasküler tonusun düzenlenmesinde oldukça önemli olduğu gözlenen bu mekanizmaların bazal damar tonusunun düzenlenmesine de katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın bu konuyu detaylı bir şekilde araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı eNOS/NO, MAPK, AMPK, COX ve APJ sinyal ileti yolları ile potasyum kanallarının bazal vasküler tonus regülasyonundaki fonksiyonel etkilerini sıçan torasik aort modelinde izole organ banyosu yöntemini kullanarak araştırmaktır.

yal yolağının (prostanoidlerin) bazal damar tonusunun düzenlenmesindeki rolü araştırıldı. 3- U0126 grubu: MAPK sinyal yolağının bazal damar tonusunun düzenlenmesindeki rolü araştırıldı. 4- Dorsomorfin grubu: AMPK sinyal yolağının bazal damar tonusunun düzenlenmesindeki rolü araştırıldı. 5- F13A grubu: APJ sinyal yolağının bazal damar tonusunun düzenlenmesindeki rolü araştırıldı. 6- Tetraetilamonyum (TEA) grubu: Potasyum kanallarının bazal damar tonusunun düzenlenmesindeki rolü araştırıldı.

Sıçanlar anestezi uygulanmadan dekapite edildi. Torakoabdominal bölgeleri dikkatli bir şekilde eksize edilen sıçanların torasik aortları hızlı bir şekilde çıkarıldı. Torasik aort dokuları, soğuk Krebs solüsyonu içeren Petri kaplarına yerleştirildi. Perivasküler dokulardan dikkatlice arındırılan damarlardan 4 mm uzunluğunda damar halkaları hazırlandı. Bir sıçanın torasik aortundan 4 adet damar halkası elde edildi (her bir damar halkası n = 1). Vasküler halkalar izole organ banyosu sistemindeki (MAY IOBS99, Commat Ltd., Ankara) cam banyo haznelere çelik damar asma aparatları ve cerrahi iplik kullanılarak yerleştirildi. Rezervuarlar ve banyo haznelere Krebs solüsyonu (Tablo I) ile dolduruldu. Dokuların maruz kaldığı sıcaklık, çift çeperli sistemde sürekli olarak dolaşan sıcak distile su ile, 37 °C'de sabit tutuldu. Krebs solüsyonu içerisindeki dokular % 95 O₂ - % 5 CO₂ gaz karışımı ile sürekli olarak gazlandırıldı ve pH 7,4 olarak ayarlandı. İlk 30 dakikanın ardından dinlenim gerimi 1 gram olarak ayarlandı. Daha sonra dokuların metabolik ve fizyolojik olarak dengelenmesi için 1 saat daha beklendi. Bu süreç boyunca banyo haznelerindeki Krebs solüsyonu metabolik son ürünlerin uzaklaştırılması ve içerik konsantrasyonunun yeterli düzeyde tutulabilmesi amacıyla her 15 dakikada bir yenilendi. Vasküler halkalardaki gerim değişiklikleri izometrik kuvvet transdüserleri (MAY FDT05) ile tespit edildi ve bilgisayar yazılımı (BIOPAC MP36) ile kaydedildi.

Gereç ve Yöntem

Etik Onay ve Deney Hayvanları

Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 15.06.2021 tarih ve 2021-08/4 sayılı etik onay alındı. Çalışmada Bursa Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Birimi'nden temin edilen 12 haftalık 20 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar her bir kafeste 4-6 adet olacak şekilde, 22 ± 2 °C'de, 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık döngüsünde tutuldu. Ad libitum olarak yem ve su alımı sağlandı.

İzole Organ Banyosu Deneyleri

Çalışma 6 ana grup olarak planlandı. 1- N^ω-Nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) grubu: eNOS/NO sinyal yolağının bazal damar tonusunun düzenlenmesindeki rolü araştırıldı. 2- İndometazin grubu: COX sin-

Tablo I. İlaçlar, kullanım amaçları ve dozları.

Madde	Kullanım amacı	Doz
F13A	APJ reseptör antagonisti	10 ⁻⁷ M
L-NAME	eNOS inhibitörü	10 ⁻³ M
U0126	MAPK kinaz 1-2 inhibitörü	1,5 µM
İndometazin	Nonselektif COX 1-2 inhibitörü	5 µM
Dorsomorfin	AMPK inhibitörü	10 µM
TEA	Nonselektif potasyum kanal inhibitörü	1 mM

Sinyal ileti yollarının ve potasyum kanallarının bazal damar tonusuna etkisini belirlemek için dengeleme periyodu sonrasında dinlenim durumundaki damar halkalarından 10 dakikalık süredeki gerim değerlerinin kaydı alındı. Sonrasında her bir grup için ayrı ayrı sinyal yolak inhibitörleri F13A (10⁻⁷ M), L-NAME (10⁻³ M), dorsomorfin (Compound C; 10 µM), TEA (1 mM), U0126 (1,5 µM) veya indometazin (5 µM) uygulandı. İnhibitörlerin etkilerini tam olarak

Vasküler Tonus Regülasyonu

gösterebilmeleri için 30 dakika beklendi ve sonrasında 10 dakikalık süredeki damar gerimlerinin kaydı alındı. İnhibitör madde uygulanmadan önceki 10 dakikalık kayıta elde edilen bazal gerim değerleri kontrol grubu olarak kullanıldı. Kontrol grubundaki gerim değerleri % 100 olarak kabul edildi. İnhibitör maddelerin uygulanmasından sonraki 30 dakikalık kaydı takiben elde edilen 10 dakikalık gerim değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Damar halkaları yıkanarak belirtilen protokol tekrar edildi. Her bir grup aynı deney hayvanından elde edilen damar halkaları ile tamamlandı. Bu şekilde araştırılan sinyal ileti yollarının ve potasyum kanallarının bazal damar tonusuna etkisi belirlendi.

İlaçlar

Bu çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler ve ilaçlar Sigma-Aldrich/Merck firmasından temin edildi. İlaç dozları literatüre uygun olarak belirlendi (Tablo II). İlaçlar kullanım talimatlarına göre hazırlandı. F13A, L-NAME ve TEA distile su içerisinde çözüldü. Dorsomorfin, U0126 ve indometazin dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözüldü. Krebs çözeltisindeki son DMSO konsantrasyonu % 0,1'i geçmedi ve DMSO vasküler düz kas kasılmasını veya gevşemesini etkilemedi.

Tablo II. Krebs solüsyonunun içeriği.

Madde	Molarite (mM)
CaCl ₂ · 2H ₂ O	2,5
NaCl	118
KCl	4,8
KH ₂ PO ₄	1,2
C ₆ H ₁₂ O ₆ · H ₂ O	11
NaHCO ₃	25
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1,2

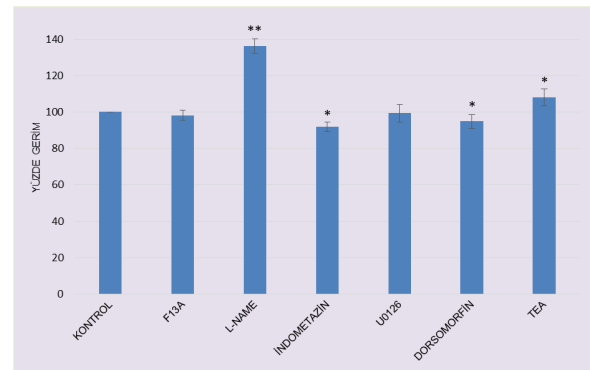
İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS (IBM SPSS Statistics 23) programı kullanıldı. Elde edilen veriler, inhibitör madde uygulamasından önceki 10 dakikalık periyotta elde edilen bazal gerim değerlerinin yüzdesi olarak ortalama ± standart hata (ort. ± SH) (n = 8) şeklinde ifade edildi. İnhibitör madde uygulamasından önceki (kontrol = % 100) ve sonraki periyotta elde edilen yüzde gerim değerleri karşılaştırıldı. İkili grupların karşılaştırılmaları için eşleştirilmiş örneklem T testi uygulandı. 0,05'ten küçük olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Kontrol gruplarının yüzde gerim değerleri % 100 olarak kabul edildi. İnhibitör madde uygulamasının öncesindeki ve uygulamadan 30 dakika sonrasındaki 10'ar dakikalık periyotlardaki yüzde gerim değerleri

karşılaştırıldı. L-NAME grubunun yüzde gerim değerleri (136,20 ± 3,94) kontrol grubunun yüzde gerim değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu (p < 0,001). İndometazin grubunun yüzde gerim değerleri (91,90 ± 2,74) kontrol grubunun yüzde gerim değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulundu (p < 0,05). Kontrol grubunun yüzde gerim değerleri ile U0126 grubunun yüzde gerim değerleri (99,30 ± 4,69) arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark bulunmadı (p > 0,05). Dorsomorfin grubunun yüzde gerim değerleri (94,84 ± 3,88) kontrol grubunun yüzde gerim değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulundu (p < 0,05). Kontrol grubunun yüzde gerim değerleri ile F13A grubunun yüzde gerim değerleri (98,23 ± 2,82) arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark bulunmadı (p > 0,05). TEA grubunun yüzde gerim değerleri (108,04 ± 4,53) kontrol grubunun yüzde gerim değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu (p < 0,01) (Şekil 1).



Şekil 1.

Sinyal ileti yolları ve potasyum kanallarının sıçan torasik aortundaki bazal damar tonusuna etkileri. Veriler ortalama ± standart hata şeklinde ifade edilmiştir. Her bir grupta n = 8. *: p < 0,05. **: p < 0,001.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada eNOS/NO, COX ve AMPK sinyal ileti yolları ile potasyum kanallarının sıçan torasik aortundaki bazal damar tonusunun düzenlenmesinde rol oynadıkları belirlenmiştir. Bununla birlikte çalışmamızda MAPK ve APJ sinyal ileti yollarının sıçan torasik aortundaki bazal vasküler tonus regülasyonuna katkıda bulunmadıkları sonucu elde edilmiştir.

Çalışmamızda endotel bağımlı vazodilatatör mekanizmaların en önemlisi olan eNOS/NO sinyal yolağının sıçan torasik aortundaki bazal damar tonusunun düzenlenmesinde rol oynadığı belirlenmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuç daha önceki çalışmalarda elde edilen verilerle uyumludur. Endotel kaynaklı faktörle-

rin vasküler tonus düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu faktörlerden başlıcaları eNOS/NO sinyal yolağının aktiflenmesi ile üretilen NO ve COX yolağı üzerinden üretilen, başlıca PGI₂ (prostasiklin) olmak üzere, prostaglandinlerdir. NO, solübl guanilat siklazı aktive ederek siklik guanozin monofosfat oluşumunu uyarmaktadır. Sonrasında uyarılan protein kinaz G ve aktifleşen birçok mekanizma ile sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonunun ve kontraktıl elemanların kalsiyum duyarlılığının azalması sonucunda vazodilatasyon meydana gelmektedir³. Bu mekanizmayı aktifleştiren veya doğrudan vücuda NO sağlayan ilaçlar özellikle artmış vazoreaktivite ile ilişkili hipertansiyon gibi hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda elde edilen veriler L-NAME uygulanarak oluşturulan eNOS inhibisyonu sonrasında sıçan torasik aortundaki bazal damar tonusunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir artış olduğunu göstermektedir. Bu durum sıçan torasik aortundaki bazal tonus düzenlenmesinde eNOS/NO sinyal yolağının önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Daha önceki çalışmalar eNOS/NO sinyal yolağının birçok vazoaaktif maddenin endotel bağımlı vazodilatatör etkisine aracılık ettiğini göstermektedir. Son zamanlarda yaptığımız bir çalışmada apelinin sıçan torasik aortundaki vazorelaksan etkisinde eNOS/NO sinyal yolağının önemli bir katkısının olduğu belirlenmiştir⁴. Ayrıca nesfatin-1 ve resveratrol gibi vazoaaktif maddelerin vazodilatatör etkilerinde de eNOS/NO sinyal yolağının rolü olduğu rapor edilmiştir^{5,6}. Bu sonuçlar vazoaaktif maddelerin vazorelaksan etki mekanizmalarında eNOS/NO sinyal yolağının oldukça önemli bir yer tuttuğunu göstermektedir. Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgular daha önceki çalışmalarla uyumluluk göstermekte ve sıçan torasik aortundaki bazal damar tonus regülasyonunda önemli faktörlerden birinin de eNOS/NO sinyal yolağı olduğuna işaret etmektedir. Öte yandan elabela gibi bazı vazoaaktif maddelerin vazodilatatör etkisinin ise eNOS/NO sinyal yolağından bağımsız olarak gerçekleştiği rapor edilmiştir⁷. Bu nedenle vasküler tonus regülasyonuna farklı etken maddelerin farklı mekanizmalarla aracılık ettiği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmalarda tercih edilen damar yatağının türü de elde edilen sonuçları etkileyebilmekte ve her bir damar yatağının ayrı olarak araştırılması gerekmektedir.

Endotel bağımlı önemli vazodilatatör mekanizmalardan bir diğeri ise COX sinyal yolağıdır. Bu çalışmada elde ettiğimiz veriler COX sinyal yolağının sıçan torasik aortundaki bazal damar tonus düzenlenmesinde rol aldığını göstermektedir. COX sinyal yolağının ürünü olan prostanoidler, fizyolojik ve patolojik uyarıya yanıt olarak vazokonstriksiyona veya vazodilatasyona neden olabilmektedir⁸. Prostaglandinlerin akım aracılı olarak arteriollerde meydana gelen vazodilatasyonda rol oynadığı bildirilmiştir⁹. Prostanoid aracılı vazodilatatör etkinliğin eNOS/NO gibi diğer endotel kaynaklı vazodilatatör yolların baskılandığı

durumlarda daha belirgin olduğu ve nörohümorale faktörlerden çok kan akımı ile ilişkili nedenlerle ortaya çıktığı ileri sürülmektedir^{10,11}. Prostanoidler arasında özellikle PGI₂, PGD₂ ve PGE₂'nin genellikle vazodilatatör etkinlik gösterdiği bildirilmiştir. PGH₂, PGF_{2α} ve TxA₂'nin ise genellikle vazokonstriktör etkinlik gösterdiği belirlenmiştir¹². Özellikle PGI₂, COX sinyal yolağının neden olduğu vazodilatasyonda oldukça önemlidir. Güçlü bir vazodilatatör olan PGI₂'nin farelerde ve insanlarda koroner kan akımının düzenlenmesinde rol aldığı bildirilmiştir^{13,14}. PGI₂ ve sentetik analoglarının çeşitli potasyum kanallarının açılması sonucunda hiperpolarizasyona neden olarak vazorelaksasyona neden olduğu ileri sürülmektedir^{15,16}. PGE₂ damar yatağı ve ilgili reseptör alt tipine bağlı olarak büyük kan damarlarını genişletebilmekte veya daraltabilmektedir^{8,12}. PGD₂ injeksiyonunun fare kulak damarlarında doza bağımlı bir şekilde vazodilatasyona neden olduğu belirlenmiştir⁸. PGF_{2α}'nın sıçan femoral arter şeritlerinde vazokonstriksiyona neden olduğu, benzer şekilde hamster aortunda da vazokonstriktör etki gösterdiği bildirilmiştir¹⁷. TxA₂'nin, koroner ve serebrovasküler iskemide rol oynayan güçlü bir vazokonstriktör olduğu gösterilmiştir¹⁸. Tüm bu sonuçlar COX sinyal yolağının ve prostanoidler bazal damar tonusunun düzenlenmesine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Buna karşın COX sinyal yolağının sıçan torasik aortundaki bazal damar tonus regülasyonundaki rolünün araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda elde edilen bulgular nonselektif bir COX inhibitörü olan indometazin uygulamasının sıçan torasik aortundaki bazal tonusu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığını göstermektedir. Bu veri prostanoidler bazal vasküler tonus regülasyonunda önemli bir rol oynadığını ve sıçan torasik aortunda da etkin olduğunu düşündürmektedir. Öte yandan damar yatağının türüne göre vasküler tonus düzenleyici mekanizmaların etkinliği değişebilmektedir. Örneğin insan internal torasik arter örneklerinde apelinin prostanoid aracılı vazodilatatör etkisinden bahsedilirken, insan hepatik ve mezenterik arter örneklerinde apelin aracılı vazorelaksan etkinin prostanoidlerden bağımsız olarak meydana geldiği bildirilmiştir^{19,20}. Bu nedenle her bir damar yatağındaki bazal damar tonusunu düzenleyici faktörlerin değişkenlik gösterebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada elde edilen bulgularla prostanoidler sıçan torasik aortundaki bazal damar tonusunun düzenlenmesine rolü olduğu gösterilmiş olmakla birlikte çalışmamızda nonselektif bir COX inhibitörü olan indometazin kullanılmış olması nedeniyle bu düzenlemeye hangi prostanoid alt tipinin ne ölçüde katkıda bulunduğu belirlenmemiştir. Sonraki çalışmalarda spesifik COX ve prostaglandin sentaz inhibitörleri kullanılarak bazal vasküler tonus regülasyonunda rol oynayan prostanoid alt tipleri ve katkı düzeylerinin belirlenebileceği düşünülmektedir.

Vasküler Tonus Regülasyonu

Çalışmamızda elde ettiğimiz bir diğer önemli sonuç da AMPK sinyal yolağının sıçan torasik aortundaki bazal vasküler tonus regülasyonuna katkıda bulunduğudır. Damar düz kas ve endotel hücreleri ile perivasküler adipöz dokudan kaynaklanabilen AMPK'nın vasküler tonusunun düzenlenmesinde rolü olduğu ileri sürülmektedir²¹. AMPK vasküler endotel hücrelerdeki eNOS aktivitesini uyarmakta ve bunun sonucunda endotel bağımlı ve NO aracılı olarak vazodilatasyon meydana gelmektedir²². Ayrıca AMPK'nın endotelden bağımsız vazodilatasyonda da rolü olduğu bildirilmiştir. Bu etki vasküler düz kas hücresindeki miyozin hafif zincir kinazın Ca²⁺ duyarlılığının azalması yolu ile sağlanmaktadır²³. Daha önceki çalışmalar AMPK sinyal yolağının vazorelaksan etkilere aracılık ettiğini göstermektedir. AMPK aktivasyonunun spontan hipertansif sıçanlarda NO aracılı vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiştir²⁴. AMPK'nın fare aort düz kasının endotelden bağımsız gevşemesinde rolü olduğu bildirilmiştir. AMPK aktivatörü 5-aminoimidazol-4-karboksamid-1-β-D-ribofuranosid (AICAR)'ın arteriyel vazodilatasyona neden olduğu ve bu etkinin AMPK'dan yoksun farelerde büyük oranda azaldığı belirlenmiştir²⁵. AICAR'ın spontan hipertansif sıçanlarda kan basıncını hızla düşürdüğü gösterilmiştir²⁴. Obez sıçanlarda AICAR uygulamasına bağlı olarak sistolik kan basıncında düşüş görülmüştür²⁶. Daha selektif bir AMPK aktivatörü olan A769662'nin direnç arterlerinde endotelden bağımsız gevşemeye neden olduğu belirlenmiştir²⁷. Tüm bu veriler AMPK'nın vasküler tonus düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğunu açıkça ortaya koymakla birlikte şimdiye kadar AMPK sinyal yolağının bazal damar tonusunun düzenlenmesinde rol oynayıp oynamadığını gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızın sonuçları AMPK inhibitörü dorsomorfin uygulamasının sıçan torasik aortundaki bazal damar tonusunu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığını göstermiştir. Elde edilen bu veri daha önceki çalışmalarda gösterilen AMPK aracılı vazoaaktif etkilerle birbirini tamamlamaktadır ve AMPK sinyal yolağı ile ilişkili mekanizmaların bazal damar tonusunun düzenlenmesine önemli bir katkısının olduğunu düşündürmektedir. Son zamanlarda yaptığımız bir çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar da bu çalışmadaki bulgumuzla aynı doğrultudadır. Apelinin sıçan torasik aortundaki vazodilatatör etkisini gösterdiğimiz çalışmamızda apelinin vasküler fonksiyonel etkilerine aracılık eden önemli bir mekanizmanın da AMPK sinyal yolağı olduğu belirlenmiştir⁴. Bu verilerin tamamı dikkate alındığında vasküler tonus regülasyonunda önemli bir faktörün de AMPK sinyal yolağı olduğu ve bu mekanizmanın hem uyarılmış hem de bazal şartlardaki vasküler tonus regülasyonunu etkilediği sonucuna ulaşılmaktadır.

Araştırmış olduğumuz önceki sinyal ileti mekanizmalarının aksine MAPK ve APJ sinyal ileti yollarının sıçan torasik aortunun bazal tonusunun düzenlenmesinde rol oynamadıkları çalışmamızda ulaşılan bir

diğer önemli sonuçtur. MAPK sinyal yolağının vasküler kontraktıl fonksiyonlarla ilişkili olduğu düşünülmektedir. İzole edilmiş kan damarlarındaki bazı G protein kenetli reseptörlerin aktivasyonuna yanıt olarak meydana gelen kasılmanın MAPK sinyal yolağında aktifleşen ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK) aktivitesindeki artış ile ilişkili olduğu ve ERK inhibisyonunun kan damarlarının kasılma derecesini azalttığı rapor edilmiştir^{28,29}. Kan damarlarındaki gerilme sonucunda meydana gelen kasılmanın ERK aktivitesindeki artışla bağlantılı olduğu bildirilmiştir³⁰. ERK'nin yaban gelinciği aortundaki α1-adrenoseptör aracılı kasılmada ve domuz palmar lateral venindeki α2-adrenoseptör aracılı kasılmada rol oynadığı gözlenmiştir^{29,31}. Başka bir çalışmada ERK'nin kan damarlarında miyozin hafif zincir kinazı aktive ederek kasılmaya neden olduğu bildirilmiştir³². Domuz palmar lateral veni kullanılan bir çalışmada ERK inhibisyonunun miyozin hafif zincir fosforilasyonunda azalmaya neden olduğu gösterilmiştir³³. Daha önceki çalışmalarda elde edilen veriler MAPK sinyal yolağının vasküler kontraktıl fonksiyonların önemli bir düzenleyicisi olduğuna işaret etmektedir. Buna karşın bazal damar tonus regülasyonunda MAPK sinyal yolağının rolü olup olmadığı şimdiye kadar gösterilmemiştir. Bizim çalışmamızda daha önceki çalışmalardan farklı olarak, MAPK sinyal yolağının U0126 kullanılarak inhibe edilmesi sonucunda sıçan torasik aortundaki bazal gerim değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşmadığı belirlenmiştir. Bu sonuç önemli kardiyovasküler etkilere aracılık etmesine rağmen MAPK sinyal yolağının sıçan torasik aortundaki bazal vasküler tonus regülasyonunda önemli bir yeri olmadığını düşündürmektedir. Güncel bir çalışmada MAPK sinyal yolağının önemli bir vazoaaktif madde olan irisinin sıçan torasik aortundaki vazorelaksan etkisine aracılık ettiği bildirilmiştir³⁴. Buna karşın elabela ve apelin gibi bazı güncel ve önemli vazoaaktif peptidlerin fare koroner arteri ve sıçan aortlarındaki vazodilatatör etkilerinde MAPK sinyal yolağının anlamlı düzeyde bir etkisi olmadığı rapor edilmiştir^{4,35}. Bu bulguların tümü MAPK sinyal yolağının bazal damar tonus düzenlenmesinden daha çok çeşitli vazoaaktif maddelerin vasküler fonksiyonel etkilerine aracılık etmede daha önemli bir role sahip olduğu düşündürmektedir. Bununla birlikte çalışmalarda kullanılan damar yatakları, uygulanan deneysel prosedürler ve kullanılan vazoaaktif maddelerin tipi elde edilen sonuçların önemli belirleyicileridirler.

APJ sinyal yolağı apelinergic sistemin endojen ligandları olan apelin ve elabela'nın fizyolojik etkilerine aracılık etmesi nedeniyle oldukça önemlidir³⁶. Bu etkilerden en belirginlerinden birisi de vazodilatasyondur. Özellikle apelinin APJ'ye bağlandıktan sonra eNOS/NO sinyal yolağı, prostanoidler ve potasyum kanallarının aktivasyonu ile vazodilatasyona neden olduğu ileri sürülmektedir³⁷. Birçok çalışmada gösterilen apelin ve elabela aracılı antihipertansif etki de bu

endojen peptidlerin vazodilatör etkileri ile uyumludur^{38,39}. Bu veriler apelin ve elabelanın hipertansif hastalıklar için terapötik potansiyel taşıdığını ve bu maddelerin vazorelaksan etkisine aracılık eden APJ sinyal yolağının vasküler tonus düzenlenmesinde önemli bir mekanizma olabileceğini düşündürmektedir. Önceki çalışmalar APJ reseptör antagonisti uygulamasının apelinin vazorelaksan etkisini tümüyle ortadan kaldırdığını ortaya koymuştur⁴. Bazal şartlardaki damar tonusu üzerinde APJ sinyal yolağının belirleyici bir etkisi olup olmadığı ise henüz gösterilmemiştir. Çalışmamızda APJ reseptör antagonisti F13A uygulaması sonrasında sıçan torasik aortundaki bazal damar geriminde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişiklik oluşmadığı görülmüştür. Bu veri birçok kardiyovasküler fizyopatolojik etkisi olan APJ sinyal yolağının fizyolojik koşullarda sıçan torasik aortunun bazal tonusu üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Buna karşın daha önceki çalışmalar apelin ve elabela gibi vazoaaktif maddelerin vasküler fonksiyonel etkilerini APJ sinyal yolağı üzerinden ortaya koyduğunu göstermektedir^{4,36}. Bu nedenle MAPK sinyal yolağına benzer şekilde APJ sinyal yolağının da bazal şartlardan daha çok vazoaaktif maddeler tarafından uyarılan vasküler tonus regülasyonuna katkıda bulunan bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Ayrıca çalışmamızda hem U0126 hem de F13A tek doz olarak kullanılmış ve daha yüksek dozlarda sıçan torasik aortunun bazal gerimini etkileyip etkilemeyecekleri araştırılmamıştır. Bundan dolayı daha sonraki çalışmalarda bu inhibitör maddelerin farklı dozlarının kullanılarak ilgili sinyal yollarının bazal damar tonus düzenlenmesindeki olası rollerinin daha detaylı araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

Son olarak çalışmamızda potasyum kanallarının sıçan torasik aortundaki bazal vasküler tonus regülasyonunda önemli bir faktör olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Potasyum kanallarından hücre dışına potasyum akışı membran potansiyelinin belirlenmesinde çok önemli bir faktördür. Bu nedenle potasyum kanalları vasküler tonus düzenlenmesinde kritik role sahiptir. Potasyum kanallarının aktive olması genellikle hiperpolarizasyona, inhibe olması ise depolarizasyona neden olmaktadır. Bu durum voltaj kapılı kalsiyum kanallarının açılıp kapanmasını kontrol ederek vasküler tonus üzerinde düzenleyici olarak işlev görmektedir^{40,41}. Membran potansiyelinin sadece voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarının aktivitesini düzenlemekle kalmadığı, aynı zamanda hücre içi depolardan Ca^{+2} salımını ve kontraktıl aparatın Ca^{+2} duyarlılığını da etkilediği bildirilmiştir^{42,43}. Böylece, membran potansiyelini belirlemedeki baskınlıkları nedeniyle, K^{+} kanalları vasküler tonusun belirlenmesi ve düzenlenmesinde kilit bir rol oynamaktadır. Vasküler düz kasta çeşitli K^{+} kanalı alt tiplerinin işlevsel olduğu bildirilmiştir. Bunlardan başlıcaları ATP'ye duyarlı, Ca^{+2} ile aktiflenen, voltaja duyarlı, 2 porlu ve içeri doğrultucu K^{+} kanallarıdır^{40,41}. TEA seçici olmayan bir potasyum kanal inhibitörü

olup bu kanalların birçoğuna etki edebilmekte ve vasküler kasılma-gevşeme çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır⁴¹. Bizim çalışmamızda TEA uygulaması sonrasında sıçan torasik aortundaki bazal gerim değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuç vasküler tonus düzenlenmesinde kritik bir role sahip olan potasyum kanallarının bu etkisinin sıçan torasik aort modelinde de bazal şartlardaki vasküler tonus üzerinde etkin olduğunu göstermektedir. Elde ettiğimiz bu bulgu daha önceki çalışmalarda elde edilen ve vazoaaktif maddelerle uyarılan vasküler fonksiyonel etkilerde potasyum kanallarının rolü olduğu sonucu ile uyumludur. Son zamanlarda yapılan bir çalışma irisinin vazodilatör etkisinde potasyum kanallarının aktivasyonunun önemli bir faktör olduğunu göstermektedir⁴⁴. Benzer şekilde potasyum kanalları rezervatrol ve apelin gibi birçok vazoaaktif maddenin vazorelaksan etkisine de aracılık etmektedir^{4,6}. Tüm bu veriler göstermektedir ki potasyum kanalları hem bazal damar tonusunun hem de vazoaaktif maddelerle uyarılmış vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli bir etkidir. Çalışmamızda seçici olmayan bir potasyum kanal inhibitörü kullanılması nedeniyle hangi potasyum kanal alt tiplerinin ve ne düzeyde bazal damar tonus regülasyonuna katkıda bulunduğu belirlenmemiştir. Daha sonraki çalışmalarda spesifik potasyum kanal alt tip inhibitörleri kullanılarak hangi potasyum kanallarının bazal damar tonus regülasyonunda rol aldığının gösterilebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızın bazı önemli kısıtları bulunmaktadır. Bu kısıtların birisi çalışmamızın in vitro şartlarda yapılmış olmasıdır. Bunun yanında çalışmamızda potasyum kanal aktivasyonunu göstermek amacıyla *path clamp* tekniği gibi doğrudan ölçüm yöntemleri kullanılmamıştır. Ayrıca elastik bir damar olan aort kullanılmış olması ve musküler arter örnekleri kullanılmamış olması çalışmamızın diğer bir önemli kısıttır. Daha sonraki çalışmalarda insan damar örnekleri, hastalık modelleri ve farklı ilaç dozları kullanılarak yeni veriler elde edilebilir. Bununla birlikte protein kinaz C ve Rho kinaz sinyal yolları gibi diğer önemli mekanizmaların da bazal vasküler tonus regülasyonundaki olası rolleri araştırılabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen veriler eNOS/NO, COX ve AMPK sinyal yolları ile potasyum kanallarının sıçan torasik aortundaki bazal vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli rolleri olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, MAPK ve APJ sinyal yollarının inhibisyonu sıçan torasik aortundaki bazal damar gerimi üzerinde anlamlı düzeyde bir etki göstermemiştir. Bu durum seçilen damar yatağı veya ilaç dozlarından kaynaklanmış olabilir. Artmış vazoreaktivite ile ilişkili birçok hastalığın tedavisi açısından anlaşılması oldukça önemli olan bazal vasküler tonusun fizyolojik regülasyonu çok sayıdaki kompleks mekanizmaların bir sonucudur ve bu çalış-

Vasküler Tonus Regülasyonu

mada sadece bazı önemli mekanizmaların etkisi araştırılmıştır. Vasküler fonksiyonel mekanizmalara dair elde edilen yeni veriler literatüre önemli katkılar sağlayacaktır.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri

Yerel Etik Kurulu

Onay Tarihi: 15.06.2021

Karar No: 2021-08/4

Araştırmacı Katkı Beyanı: Fikir ve tasarım: S.Ş., N.İ.; Veri toplama ve işleme: S.Ş.; Analiz ve verilerin yorumlanması: S.Ş., N.İ.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: S.Ş., N.İ.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Bu makalede yer alan çalışmalar Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nın imkanları ile gerçekleştirilmiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarlarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL, (eds.). Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi. 24. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2015.
2. Hall JE, (ed.). Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. 13. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2017.
3. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SWS. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of Pharmacological Sciences* 2015;129(2):83-94.
4. Sahinturk S, Demirel S, Ozyener F, Isbil N. [Pyr1]apelin-13 relaxes the rat thoracic aorta via APJ, NO, AMPK, and potassium channels. *General Physiology and Biophysics* 2021;40(5):427-34.
5. Barutçigil A, Tasatargil A. Effects of nesfatin-1 on atrial contractility and thoracic aorta reactivity in male rats. *Clinical and Experimental Hypertension* 2018;40(5):414-20.
6. Tan CS, Loh YC, Tew WY, Yam MF. Vasorelaxant effect of 3,5,4'-trihydroxy-trans-stilbene (resveratrol) and its underlying mechanism. *Inflammopharmacology* 2020;28(4):869-75.
7. Wang Z, Yu D, Wang M, Wang Q, Kouznetsova J, Yang R, et al. Elabela-apelin receptor signaling pathway is functional in mammalian systems. *Scientific Reports* 2015;5:8170.
8. Zhu L, Zhang Y, Guo Z, Wang M. *Cardiovascular Biology of Prostanoids and Drug Discovery. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2020;40:1454-63.
9. Koller A, Kaley G. Prostaglandins mediate arteriolar dilation to increased blood flow velocity in skeletal muscle microcirculation. *Circulation Research* 1990;67:529-34.
10. Corriu C, Félétou M, Canet E, Vanhoutte PM. Endothelium-derived factors and hyperpolarisations of the isolated carotid artery of the guinea-pig. *British Journal of Pharmacology* 1996;119:959-64.
11. Zygmunt PM, Plane F, Paulsson M, Garland CJ, Högestätt ED. Interactions between endothelium-derived relaxing factors in the rat hepatic artery: focus on regulation of EDHF. *British Journal of Pharmacology* 1998;124:992-1000.
12. Félétou M, Huang Y, Vanhoutte PM. Endothelium-mediated control of vascular tone: COX-1 and COX-2 products. *British Journal of Pharmacology* 2011;164(3):894-912.
13. Gutterman DD, Chabowski DS, Kadlec AO, Durand MJ, Freed JK, Ait-Aissa K, Beyer AM. The human microcirculation: regulation of flow and beyond. *Circulation Research* 2016;118:157-72.
14. Gwózdź P, Drelicharz L, Kozłowski VI, Chłopicki S. Prostacyclin, but not nitric oxide, is the major mediator of acetylcholine-induced vasodilatation in the isolated mouse heart. *Pharmacological Reports* 2007;59:545-52.
15. Corriu C, Félétou M, Edwards G, Weston AH, Vanhoutte PM. Differential effects of Prostacyclin and Iloprost in the isolated carotid artery of the guinea-pig. *European Journal of Pharmacology* 2001;426:89-94.
16. Félétou M, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarizations: past beliefs and present facts. *Annals of Medicine* 2007;39:495-516.
17. Wong SL, Leung FP, Lau CW, Au CL, Yung LM, Yao X, et al. Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin F2alpha mediates endothelium-dependent contractions in the aortae of hamsters with increased impact during aging. *Circulation Research* 2009;104:228-35.
18. Smith JB, Araki H, Lefer AM. Thromboxane A2, prostacyclin and aspirin: effects on vascular tone and platelet aggregation. *Circulation* 1980;62(6 pt 2):(V19-V25).
19. Maguire JJ, Kleinz MJ, Pitkin SL, Davenport AP. [Pyr1]apelin-13 identified as the predominant apelin isoform in the human heart: vasoactive mechanisms and inotropic action in disease. *Hypertension* 2009;54(3):598-604.
20. Salcedo A, Garjjo J, Monge L, Fernández N, García-Villalón AL, Turrión VS, et al. Apelin effects in human splanchnic arteries. Role of nitric oxide and prostanoids. *Regulatory Peptides* 2007;144:50-5.
21. Verma T, Sinha M, Bansal N, Yadav SR, Shah K, Chauhan NS. *Plants Used as Antihypertensive. Natural Products and Bioprospecting* 2021;11(2):155-84.
22. Ewart MA, Kennedy S. AMPK and vasculoprotection. *Pharmacology & Therapeutics* 2011;131:242-53.
23. Salt IP, Hardie DG. AMPK, AMP-Activated Protein Kinase: An Ubiquitous Signaling Pathway With Key Roles in the Cardiovascular System. *Circulation Research* 2017;120(11): 1825-41.
24. Ford RJ, Teschke SR, Reid EB, Durham KK, Kroetsch JT, Rush JW. AMP-activated protein kinase activator AICAR acutely lowers blood pressure and relaxes isolated resistance arteries of hypertensive rats. *Journal of Hypertension* 2012;30:725-33.
25. Goirand F, Solar M, Athea Y, Viollet B, Mateo P, Fortin D, et al. Activation of AMP kinase alpha1 subunit induces aortic vasorelaxation in mice. *The Journal of Physiology* 2007;581:1163-71.
26. Buhl ES, Jessen N, Pold R, Ledet T, Flyvbjerg A, Pedersen SB, et al. Long-term AICAR administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in rats displaying features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 2002;51:2199-206.
27. Schneider H, Schubert KM, Blodow S, Kreutz CP, Erdogmus S, Wiedenmann M, et al. AMPK dilates resistance arteries via activation of SERCA and BK_{Ca} channels in smooth muscle. *Hypertension* 2015;66:108-16.
28. Banes A, Florian JA, Watts SW. Mechanisms of 5-hydroxytryptamine2A receptor activation of the mitogen-activated protein kinase pathway in vascular smooth muscle. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1999;291(3):1179-87.
29. Roberts RE. Role of the extracellular signal-regulated kinase (ERK) signal transduction cascade in α 2-adrenoceptor-mediated vasoconstriction in porcine palmar lateral vein. *British Journal of Pharmacology* 2001;133(6):859-66.
30. Oeckler RA, Kaminski PM, Wolin MS. Stretch enhances contraction of bovine coronary arteries via an NADPH oxidase-mediated activation of the extracellular signal-regulated mitogen-activated protein kinase cascade. *Circulation Research* 2003;92(1):23-31.

31. Dessy C, Kim I, Sougnez CL, Laporte R, Morgan KG. A role for MAP kinase in differentiated smooth muscle contraction evoked by α -adrenoceptor stimulation. *American Journal of Physiology* 1998;275(4 Pt 1):C1081–C1086.
32. Klemke RL, Cai S, Giannini AL, Gallagher PJ, de Lanerolle P, Cheresch DA. Regulation of cell motility by mitogen-activated protein kinase. *Journal of Cell Biology* 1997;137(2):481–92.
33. Roberts RE. The role of Rho kinase and extracellular regulated kinase-mitogen-activated protein kinase in α 2-adrenoceptor-mediated vasoconstriction in the porcine palmar lateral vein. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2004;311(2):742–7.
34. Demirel S, Sahinturk S, Isbil N, Ozyener F. Irisin relaxes rat thoracic aorta: MEK1/2 signaling pathway, K_V channels, SK_{Ca} channels, and BK_{Ca} channels are involved in irisin-induced vasodilation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 2021; doi: 10.1139/cjpp-2021-0500.
35. Perjés Á, Kilpiö T, Ulvila J, Magga J, Alakoski T, Szabó Z, et al. Characterization of apela, a novel endogenous ligand of apelin receptor, in the adult heart. *Basic Research in Cardiology* 2016;111:2.
36. Isbil N, Sahinturk S, Demirel S. Vascular Functional Effects of the Apelinergic System. *Journal of Literature Pharmacy Sciences* 2021;10(1):12-20.
37. Rikitake Y. The apelin/APJ system in the regulation of vascular tone: friend or foe?. *The Journal of Biochemistry* 2020;0(0):1–4.
38. Mughal A, O'Rourke ST. Vascular effects of apelin: Mechanisms and therapeutic potential. *Pharmacology & Therapeutics* 2018;190:139-47.
39. Yang P, Read C, Kuc RE, Buonincontri G, Southwood M, Torella R., et al. Elabela/Toddler Is an Endogenous Agonist of the Apelin APJ Receptor in the Adult Cardiovascular System, and Exogenous Administration of the Peptide Compensates for the Downregulation of Its Expression in Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation* 2017;135(12):1160-73.
40. Jackson WF. Ion Channels and Vascular Tone. *Hypertension* 2000;35(1 Pt 2):173-8.
41. Tykocki NR, Boerman EM, Jackson WF. Smooth Muscle Ion Channels and Regulation of Vascular Tone in Resistance Arteries and Arterioles. *Comprehensive Physiology* 2017;7(2):485–581.
42. Ganitkevich VY, Isenberg G. Membrane potential modulates inositol 1,4,5-trisphosphate-mediated Ca^{2+} transients in guinea-pig coronary myocytes. *The Journal of Physiology* 1993;470:35–44.
43. Okada Y, Yanagisawa T, Taira N. BRL 38227 (levcromakalim)-induced hyperpolarization reduces the sensitivity to Ca^{2+} of contractile elements in canine coronary artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 1993;347:438–44.
44. Demirel S, Sahinturk S, Isbil N, Ozyener F. Physiological role of K^+ channels in irisin-induced vasodilation in rat thoracic aorta. *Peptides* 2022;147:170685.