

Periferik Damar Patolojilerinde Nitric Oxide ile İlgili Yeni Yaklaşımlar

Ufuk Yetkin, Türkan Özdemir, Mert Kestelli, Ali Gürbüz

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği, İzmir

ÖZET

Nitric oxidin kadiyovasküler patolojilerde büyük bir popüleriteye ulaşması süreci nitratlarla başlamıştır. Önceleri akut anginal atakları gidermede kullanılan nitroglicerinin daha sonra uzun etkili nitratlarla koroner arter hastalığında, anginal ataklar ve iskeminin süregen tedavisi ile önlenmesinde kullanıma girmiştir. Nitratların bilimsel açıdan büyük bir potansiyel ilgi görmesi Furchgott'un 1987 yılında etki mekanizmalarını belirlemesiyle başlamış ve günümüzde antiproliferatif özelliklerinin anlaşılmasıyla potansiyel antiaterosklerotik endikasyon alanı dahi keşfedilmiştir. Son on yıl içinde de nitratların yeni farmakolojik etkileri ve potansiyel klinik endikasyonları saptanmıştır. Journal Science tarafından 1992 Aralık ayında yılın molekülü seçilme onuru nitric oxidin olmuştur. Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçların incelenip daha geniş hasta popülasyonlarında doğrulanmasıyla nitric oxidin geniş spektrumlu fizyolojik etkileri olan birincil fizyolojik bir transmitter olduğu anlaşılmıştır. Halen de spesifik organ ya da sistemlere yönelik spesifik endikasyon kullanımı açısından araştırılan nitric oxide, resmi olarak yılın molekülü seçilmiş olsa da "geleceğin molekülü" nitelendirilmesini hak etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nitric oxide, atheroskleroz, reperfüzyon hasarı

SUMMARY

NEW PERSPECTIVES FOR NITRIC OXIDE IN VASCULAR DISEASES

In cardiovascular pathologies, the process of being popular for nitric oxide began with nitrates. In earlier times, nitroglycerin was used to eliminate acute anginas, and then together with efficient nitrates they have been used to prevent coronary artery disease, anginas and ischemia by chronic treatment. Nitrates has been attracted attention scientifically since Furchgott determined the effect mechanism in 1987 and today even potential antiatherosclerotic indication site is discovered by comprehending antiproliferative properties. New pharmacologic effects and potential clinic indications were determined within last ten years. Nitric oxide was given honour of being chosen as year's molecule in 1992 December by Journal Science. As a result of examining the outcomes of conducted studies and verifying them in greater patient populations, it was seen that nitric oxide was a primary physiologic transmitter having physical effects with broad spectrum. Still, researches have been made in order to analyze usage of nitric oxide for specific organs or systems. Besides, having been chosen as year's molecule, it deserves the title of "the molecule of future".

Key Words: Nitric oxide, atherosclerosis, reperfusion injury.

Patlayıcı Terapötik Nitric Oxide Donörlerinin Kullanımına Kadar Nitratlar

Nitroglicerinin ya da gliseril trinitrat başlangıçta patlayıcı sanayiinde kullanılıyordu. Tüm nitro vazodilatörlerin gerçek yan etkilerinden biri olan baş ağrısı patlayıcı endüstrisi araştırmacıları tarafından zaten denenmiş bulunuyordu. 1867'de amil nitrat ve daha sonra nitroglicerinin koroner arter hastalığının tedavisine nitro bileşiklerini angina pectorisli hastalarda ilk kullanan Sir Thomas Lauder Brunton tarafından

sokulmuştur (1). Önceleri nitroglicerinin esas olarak akut anginal atakları gidermede kullanılmıştır. Oysa daha yakın zamanlarda, izosorbid dinitrat ve izosorbid mononitrat gibi uzun süre etki eden nitratlar koroner arter hastalıklı olgular-daki anginal ataklar ve iskeminin süregen tedavisi ile önlenmesinde kullanılır hale gelmiştir. Son on yıl içinde nitratların yeni farmakolojik etkileri ve potansiyel klinik endikasyonları saptanmıştır (2) (Tablo 1).

Tablo 1. Özellikle nitrogliserin olmak üzere nitratların kullanımdaki yeri ve klinikte uygulanım özellikleri (3).

1846	GTN'ninsentezi	Bir patlayıcı olarak kullanımı
1867	Hastalarda aminitratın kullanımı	Angina pectorisle ilgili akut anginal atağın giderilmesi
1879	GTN'nin hastalarda ilk kez kullanılması	Akut anginal atakların giderilmesi
1950	Yeni nitrat moleküllerinin keşfi	Anginal atakların önlenmesi
1980-1993	Yeni farmakolojik etkilerinin anlaşılması	- Trombosit agregasyonunun inhibisyonu - Kan viskozitesinin düzeltilmesi - İskemik olarak hasara uğramış myokardial metabolizmanın normalleştirilmesi - Vasküler düz kas proliferasyonunun inhibisyonu
1985	Nitric oxidin aktif EDRF temeli olarak önerilmesi	

Nitratların daha yeni olan endikasyonları akut myokard enfarktüsü hastaların tedavisini sol ventrikülün yeniden düzenlenmesini ve kalp yetmezliği olan hastalardaki egzersiz performansı ile yaşama şanslarının artırılmasını kapsar. Endojen formda oluşan nitric oxidin antiproliferatif özelliklerinin anlaşılmasıyla, nitratların potansiyel antiaterosklerotik etkileri klinik gelecekte gözükmetedir.

Dünyadaki en küçük ilaç: Nitric oxide

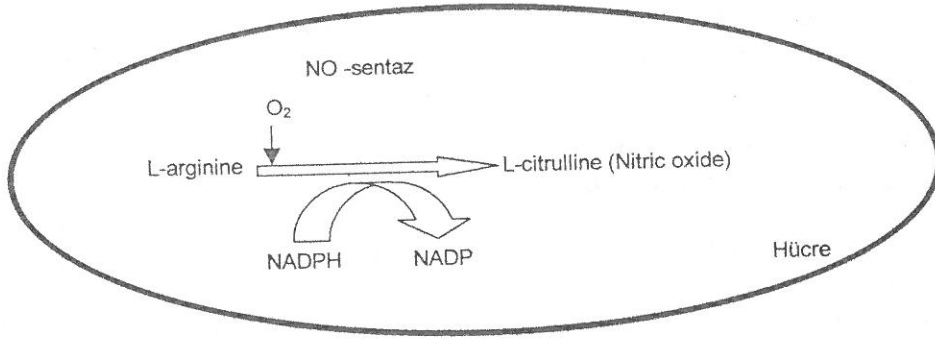
Nitratlar, dünyadaki en yaygın reçetelenen kardiyovasküler ilaçlar arasında yer almaktadır. Son 20-30 yıl içerisinde angina pectorisin tedavisinden angina profilaksisine, akut myokardial enfarktüs ve kalp yetmezliğinin tedavisine kadar nitratların endikasyon dağılımı artmıştır. Bu da hemodinamik etkilerinden kaynaklandığı kanıtlanmış bulunan nitratların klinik etkileri konusunda daha fazla bilgi edinmenin sonucunda olmuştur. Daha önceleri nitratlar önemli güvenilir ilaçlar olarak düşünülmüş olsa bile bilimsel açıdan herhangi bir büyük potansiyel ilgi görmemiştir. Bu durum Furchgott ve arkadaşlarının, nitratların etki mekanizmalarını belirledikleri 1987 yılında ani bir değişikliğe uğramıştır. Tavşan aortasıyla ilgili bir çalışmada bu araştırmacılar vazodilatör bir maddenin endoteliumdan olan lokal salınımını saptamışlardır. Endotelium türevli rölaxan faktör (EDRF) olarak adlandırılan bu madde daha sonraları nitric oxide (NO) olarak isimlendirilmiştir (4). Bu madde ayrıca ekzojen nitratların etkisinden de sorumludur. Böylece esas olarak bir gaz olan, tamamen yeni bir endojen kontrol ajanı şeklindeki nitric oxide bulunmuştur. Son yıllara gelinceye kadar toksik olarak sınıflandırılan bir çevresel toksinin vücudun her yerinde bulunduğu saptanmıştır.

Örneğin bu madde endotelium ve sinir hücrelerinde lokal olarak üretilmektedir. Nitric oxide birkaç saniye içinde çözünme gösterdiğinden bu transmitterin keşfedilmesinin niçin bu kadar zaman aldığı açıklanabilir. Nitric oxide etkisi çok düşük bir organizasyon düzeyinde olduğundan filogenetik açıdan son derece eski bir sistemi meydana getirir. Bu da inanılmaz sayıda rolleri açıklamakta, bunların pekçoğu vücuttaki kontrol süreçlerinde nitric oxide tarafından oynanan paradoksal rolleri oluşturur gözükmetedir. Geleceğe baktığımızda nitric oxide metabolizmasını modifiye eden ilaçların koroner kalp hastalığı, erektil fonksiyonsuzluk, diabetes mellitus ve malaria gibi çok geniş dağılımlı durumları önlemede kullanılabileceği düşünülebilir. Bu bilgiler nitric oxide yönelik çok yoğun ve kapsamlı araştırmalarla sağlanmış olup konuyla ilgili yayın sayısı her yıl katkatsayısal olarak artmaktadır. Journal Science tarafından çıkarılan 1992 Aralığında yılın molekülü olarak nitric oxidin seçilme onurunu da burada belirtmek gerekir (5).

Nitric oxide biyosentezi ve metabolizması

Patofizyolojik süreçlerde nitric oxidin pekçok rolünün anlaşılmasını sağlayan bir faktör olarak nitric oxide farmakolojisinin temel özelliklerine değineceğiz. Nitric oxide bir parakrin hormon olup salındığı hücrenin hemen yakınında etkili olmaktadır. Biyolojik yarı ömrü yalnızca birkaç saniye olan unstabil bir radikaldır. L-argininin, NO-sentetaz enzimi ile olan oksidasyonu yoluyla hücrelerde sentezlenmektedir (Şekil 1).

NO-sentazı çeşitli izoformlar biçiminde varolup esasen iki temel form bulunmaktadır. Birincisi, nitric oxidi bazal olarak sentezleyen ya da bir kontrol mekanizmasının bir bölümü olarak



Şekil 1. Hücre içi nitric oxide sentezinin gösterimi.

reseptör stimülasyonuna olan yanıtla kısa süreli bir temelde NO'yu sentezleyen konstitif NO-sentaz ve ikincisi de sitokinlerin etkisi altında ortaya çıkan NO-sentazdır. İkinci form, yapısal NO-sentaza oranla çok daha yüksek hızla NO oluşturmakta olup daha yoğun sitotoksik etkiler meydana getirebilmektedir. Ayrıca insan plazmasında doğal şekilde oluşan metil-argininler bulunmuş olup bunlar nitric oxide sürecinin regülatörleri olarak etki yapabilirler (1,6) (Tablo 2).

Nitric Oxid'in Patofizyolojik Rolü

Nitric oxide eşittir yararlı klinik etki şeklindeki klasik yaklaşım, onun terapötik potansiyelinin değerlendirilmesi açısından hiçbir yazar arz etmemektedir. Bu denklem nitratların günümüzdeki kardiyovasküler alandaki kullanımlarına uygulanabilirse de bunların gelecekteki terapötik kullanımları açısından mutlaka zorunlu bir türev anlamına gelmez.

Nitric oxide metabolizmasının modifiye edilmesi, organik nitratların verilmesiyle yerinin tutulacağı anlamına gelmemektedir. Çoğunlukla tedavinin amacı nitric oxide aktivitesinin kontrolünü optimize etmektir. Nitric oxidin paradoksal özelliğine ilişkin güzel örnek kan basıncı kontrolü üzerindeki etkinliği olup; kan basıncı nitric oxide yoğunluğunun fizyolojik alçalış ve yükselişleriyle devamlı olarak ayarlanmaktadır. Bununla beraber, örneğin endotoksik şokta ola-

bileceği gibi nitric oxidin çok büyük miktarlardaki serbestleşimi fatal sirkülatuvar yetmezlik ile sonuçlanabilir. Bu da tedavi stratejisinin hastanın temel nitric oxide konumuna bağlı olduğunu göstermektedir. Eğer hasta nitric oxide yetmezlikli ise kendisine nitratlar verilir ya da vücudun doğal substratı L-arginin verilerek nitric oxide üretmesi stimüle edilir. Nitric oxidin çok aşırı üretimi durumunda hastaya **L-NMMA** (L-N-monometil arginin) veya aminoguanidin gibi nitric oxide sentezinin inhibitörleri verilir. Böylece tedavinin amacı hastanın nitric oxide dengesinin spesifik farmakolojik müdahaleyle eski haline getirilmesi olmaktadır. Koroner kalp hastalığının tedavisinde nitratların kullanımı bunun klasik bir uygulanma örneğini oluşturmaktadır. Bu hastalarda hasar gören endotelium yeterince EDRF (Endotelium türevli rölaksan faktör) yani nitric oxide üretememektedir. Böylece EDRF'nin eksikliği koroner spazmlara yol açmaktadır. Ekzojen olarak verilen nitratlar damarların affekte segmentlerinde endojen nitric oxide eksikliğini giderebilmektedir (7). Bu şekilde nitric oxidin düz kas hücreleri üzerindeki doğrudan etkisi koroner damarların kasılma ve gevşeme dengesini eski haline getirmektedir (8) (Şekil 2).

Görüldüğü üzere pekçok hastalıkla nitric oxide arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır. Onun birçok klinik tablonun regülasyonuna

Tablo 2. NO-sentaz enziminin iki formunun özellikleri

	Yapısal (Konstitif) NO-Sentaz	Oluşturulabilen NO-Sentaz
Oluşum Yerleri	- Trombositlerde - Endotelial hücrelerde - Sinir hücrelerinde	- Makrofajlarda - Düz kas hücrelerinde - Endotelial hücrelerde
Kontrol ve İnhibe Edilim Özellikleri	- Hücre içi Ca++ ve calmodulin ile kontrol edilir - Glukokortikoidler ile inhibe edilemez	- Ca++'dan bağımsız sitokinler (interlökinler, bakteriyel endotoksinler) ile kontrol edilir - Glukokortikoidler ile inhibe edilebilir

katkısına ilişkin yeni sağlanan bu bilgilerle hastalıklara büyük oranda yeni bir açıdan bakış imkanı elde olunmuştur.

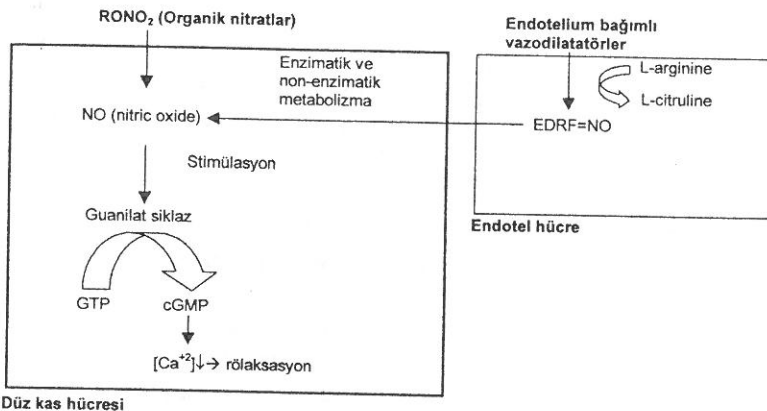
Nitric Oksidin Antiaterosklerotik ve Trombosit Agregasyonunu İnhibe Edici Etkileri

Aterosklerotik hastalarda olduğu gibi deney hayvanlarında da endotel bağımlı rölaksasyon belirgin olarak azalmış ya da kaybolmuştur. Özellikle plak ruptürü gibi durumlarda endotel katmanının morfolojisi normalde aynı kalmasına rağmen endotel hücrelerinin şeklinde ve büyüklüğünde belirgin değişiklik olur.

Hiperlipidemiklerde olduğu gibi endotel disfonksiyonu ile azalmış reseptör fonksiyonu ve nitric oksidin süperoksit anyonlar tarafından yıkımının arttığı durumlarda endotel hücrelerinin L-arginini hareket ettirmesi ya da almasına dair kapasitesi düşer. Gerçekten de hiperkolesterolemisi olan tavşanların endotel hücreleri aşırı miktarda süperoksit anyonlar üretir.

Aterosklerotik periferik arterlerde azalmış endotel bağımlı yanıt, vazokonstriktör yanıtı artırabilir, lokal kan akımını azaltabilir ve dolaşım-dan trombositlerin aktivasyonuna yol açar.

Trombositler, nitric oxide tarafından uyarılabilen ve cGMP üretimini başlatabilen yapısal bir NO-sentaz ile guanilat siklazı içermektedir. cGMP'nin hücre içi yoğunluğundaki artışa bağlı olarak trombosit agregasyonu ve endoteliuma olan adhezyonu direkt olarak azalmaktadır. Bu süreç kollajen, trombin, ADP ve araşidonik asitle tetiklenen trombosit agregasyonunu inhibe eden bir kontrol mekanizmasıdır. Bunun aterosklerozun fizyolojik inhibisyonunda önemli rol oynaması olasıdır (9).



Düz kas hücresi

Şekil 2. Organik nitratların etkiye şekli ve bunun endotelium türevli rölaksan faktör (EDRF) ile olan ilişkisi.

Trombositler de endoteliumdan salgılanan nitric oxidden etkilenirler. Böylece endotelium ve trombositler vasküler fonksiyon ve trombüs oluşumuyla ilgili fonksiyonel bir birim oluşturlar (10).

Anjioplasti sırasında arterlerin endoteliumu mekanik olarak balondan etkilenirler. Trombosit trombüsleri çok kısa sürede nitric oksidin lokal yetmezliğine bağlı oluşurlar. Bu trombüsler etkilenen yüzeylere adheze olurlar. Burada vücut kendisini daha fazla nitric oxide sentezi yaparak korur. Olayın 24. saatinde etkilenen arterlerdeki nitric oksidin artan üretimine bağlı olarak damarları gevşeten cGMP'de açık bir artış olur. Bu durum PTCA sonunda arteriyel duvarın antitrombogenetik fonksiyonlarının hızlı restorasyonunu açıklamaktadır (9,11).

Balon şişme zamanını uzatmak ve spastik iskemi önlemek için nitratlar PTCA sırasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Nitrat kullanımının yeni bir gerekçesi de bunların işlem sonrası iyileşme üzerindeki olumlu etkileridir (8,11).

Mikrosirkülasyondaki Rolü

Endotelium türevli hiperpolarize faktör gibi unsurların mikrosirkülasyonda temel rol oynamasına rağmen yapılan deneysel araştırmalarda nitric oksidin de mikrosirkülasyonda dilatasyondan sorumlu olduğu saptanmıştır (12,13). Nitric oxide ve diğer potansiyel endotelial düzenleyiciler tüm mikrovasküler yatakta bulunan kan damarlarının davranışını kontrol ederler. Bu nedenle endotel bağımlı damar fonksiyonu regülasyonu dokuya kan akımının ve olası arteriyel kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. İlginç olarak saptanmış bir gerçek de mikrosirkülasyondaki endotelium bağımlı vazodilatasyonun hipertansiyon, diabetes mellitus ve özellikle de hiperlipidemide azalmış olmasıdır.

Reperfüzyon Hasarı ve Nitric Okside

İskemi periyodları sonrası oksijenin (O₂) kan damarlarına taşınması normal hale geldiğinde, O₂ paradoksu diye bilinen bir durumu açıklarız. Beklenen iyileşme yerine fonksiyon kaybı, kardiyak kontraktile azalımı,

kan damarlarının kontraksiyonu ve belirli durumlarda da ilgili dokunun nekrozu söz konusu olur. Bu reperfüzyon hasarının nedeni tam anlaşılamamıştır. Doku hasarının özellikle oksijen radikalleri olmak üzere çeşitli radikallere bağlı olduğu düşünülebilir. Bazı çalışmalarda reperfüzyon hasarı düzeyinin nitric oxide türevleri kullanarak, radikallerin elimine edilmesiyle azaltılabileceği gösterilmiştir (14,15). Açıkçası nitric oxide agresif radikallerin nötralizasyonunda özel bir rol oynar. İntravasküler lizis sırasında oluşan radikaller nitric oxide tarafından elimine edilebilir. Bu da myokardiumun ve revaskülarize edilen durumun korunup, iyileşmesinin sağlanmasına yardımcı olur (16).

SONUÇ

Bu çalışmalardan nitric oxidin geniş spektrumlu fizyolojik etkileri olan birincil fizyolojik bir transmitter olduğu ortaya çıkmaktadır (17,18). Bundan böyle nitroksiderjik nöronlar, nitric oxide sentezi inhibitörleri ve nitric oxide donörleri gibi terimlere alışmaya başlayacağız. Ne yazık ki bu maddenin çok farklı etkilerinin olması onun anlaşılmasını zorlaştırmaktadır. Etkilerinin birçoğu paradoksaldır. Bu durum çok daha fazla araştırmanın gerekli olduğu ve birçok patobiyokimyasal metabolik sürecin birbirinden net bir şekilde ayırt edilmesi gerektiği anlamına gelmektedir (8,19,20). Yıllar süren temel araştırmalar sonunda bugün görevimiz etkin tedavilere uyumlu bilgilerin kullanımı olacaktır. Nitratların, nitric oxide donörlerinin prototipleri olduğu unutulmamalıdır. Halen spesifik endikasyon kullanımı ve spesifik organ ya da dokulara yönelik uyumlu nitratları bulma konusunda hararetle çalışmalar yapılmaktadır. Nitric oxide resmi olarak yılın molekülü seçilmiş olsa bile pek çok kişi onu gizlice "geleceğin molekülü" olarak nitelendirmektedir (5,21).

KAYNAKLAR

1. Lauder Brunton T: On the use of nitrate or amyl in angina pectoris. *Lancet* 97-102, 1867.
2. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288: 373-6, 1980.
3. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature* 327: 524-9, 1987.
4. Furchgott RF: Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite. *J Pharmacol Exp* 8: 401-14, 1988.
5. Culotta E, Koshland Jr. DE: NO news in good news. *Science* 258: 1862-5, 1992.
6. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43: 109-42, 1991.
7. Zollner S, Aberle S, Harvey SE, Polokoff MA, Rubanyi GM: Changes of endothelial nitric oxide synthase level and activity during endothelial cell proliferation. *Endothelium* 7: 169-84, 2000.
8. Channon RM, Qian H, George SE: Nitric oxide synthase in atherosclerosis and vascular injury: Insights from experimental gene therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 1873-81, 2000.
9. Sinzinger H, Virgolini I, O'Grady J, Rauscha F, Fitscha P: Modification of platelet function by isosorbide dinitrate in patients with coronary artery disease. *Thrombosis Researc* 65: 323-35, 1992.
10. Lee RJ, Springer ML, Blanco-Bose WE, Shaw R, Blau HM: VEGF gene delivery to myocardium: deleterious effects of unregulated expression. *Circulation* 102: 898-901, 2000.
11. Joly GA, Schini VB, Vanhoutte PM: Balloon injury induces nitric oxide synthase activity in rat carotid arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 20: 151-4, 1992.
12. Griffith TM: EDRF coordinates the behaviour of vascular resistance vessels *Nature* 329: 442-5, 1987.
13. Kaley G: Endothelium-derived relaxing factor in the microcirculation. *Blood Vessels* 23: 81-7, 1986.
14. Pearson PJ, Lin PJ, Schaff HV: Global myocardial ischemia and reperfusion impair endothelium dependent relaxations to aggregating platelets in the canine coronary artery. A possible cause of vasospasm after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 103: 1147-53, 1992.
15. Massini E, Bianchi S, Mugnai L, Pistelli A: The effect of nitric oxide generators on ischemia reperfusion injury and histamine release in isolated perfused guinea-pig heart. *Agents Actions* 33: 53-6, 1991.
16. Siegfried MR, Erhardt J, Rider T, Lefer AM: Cardioprotection and attenuation of endothelial dysfunction by organic nitric oxide donors in myocardial ischemia ischemia reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* 260: 668-75, 1992.
17. Argenziano M, Dickstein ML: Cardiovascular effects of inhaled nitric oxide in a canine model of cardiomyopathy. *Ann Thorac Surg* 69: 1644-5, 2000.
18. Jaeschke H, Schini VB, Farhood A: Role of nitric oxide in the oxidant stress during ischemia / reperfusion injury of the liver. *Life Sci* 50: 1797-804, 1992.
19. Bogle RG, Moncada S, Pearson JD, Mann GE: Identification of inhibitors of nitric oxide synthase that do not interact with the endothelial cell L-arginine transporter. *J Pharmacol* 105: 768-70, 1992.
20. Lahera V, Salazar J, Salom MG, Romero JC: Deficient production of nitric oxide induces volume-dependent hypertension. *J of Hypertension* 10: 173-7, 1992.
21. Choi DW: Bench to bedside: the glutamate connection. *Science* 258: 241-3, 1992.