

Endotel Kökenli Gevşetici Faktörler

ENDOTHELIUM-DERIVED RELAXING FACTORS

Sara HABİF*, Nevbahar TURGAN*, Işıl MUTAF*

* Ege Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı, İZMİR

Endokrin bir organ olarak işlev gören endotel, damar ve organ fonksiyonlarının düzenlenmesinde çok önemli bir role sahiptir. Endotel normal koşullar altında önemli bir koruyucu role de sahip olup damar duvarının fizyolojik görevlerini sürdürmesini sağlamakta, düz kas hücrelerinin büyümesini, migrasyonunun ve kasılmasını engellemekte, ayrıca pıhtılaşmayı inhibe edip, damar lümeninde yer alan pıhtıların çözülmesini sağlamaktadır. Endotel, inflamatuvar hücrelerin damar duvarına adezyon ve göçünü düzenleyerek antiinflamatuvar bir etki de göstermektedir. Endotel kökenli mediatörler, miyokard kasılması, böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesinde de aktif olarak rol oynamaktadırlar (1).

Endotel hücresinde bu fonksiyonları sürdürebilmek üzere çeşitli vazoaktif mediatörler sentezlenmekte ve salınmaktadır. Bunlar, fibronektin, heparan sülfat, interlökin-1, doku plasminojen aktivatör, çeşitli büyüme faktörleri gibi büyük moleküller ya da prostasiklin, endotel kökenli gevşetici faktör (EDRF-NO), trombosit aktive edici faktör, endotelin-1 gibi küçük moleküller olabilir. Bu mediatörlerin salınımını düzenlemek üzere endotel hücresinde, hormonlar (ör., epinefrin, anjiyotensin, insulin), otokoidler (ör., bradikinin histamin, lökotrienler), nörotransmitterler (ör., serotonin, ADP/ATP), endotelin, bradikinin) aracılığı ile aktive olabilen ve membran ile ilişkili çeşitli reseptörler bulunmaktadır (1). Endotel hücresi, hücre yüzeyindeki reseptörler aracılığı ile hücre içi kalsiyum düzeylerini arttıracak olan sinyal ileti sistemlerine de sahiptir. Membran ile ilişkili reseptörlerin birçoğu tarafından kullanılan yol fosfolipaz C'nin G proteinler aracılığı ile aktive olduğu yoldur. G proteinin yapısı ise, türler ve hücre tipleri arasında değişiklikler göstermektedir (1).

Isı, osmolarite, pH gibi faktörler, endotelin en önemli fonksiyonlarından biri olan vasküler tonüsün düzenlenmesinde rol almaktadırlar, ancak nitrik oksid

(EDRF-NO) ve prostasiklin (PGI₂) vasküler tonüsün düzenlenmesinde bugüne kadar tanımlanmış olan en önemli endotel kökenli gevşetici faktörlerdir. Endotel kökenli hiperpolarize edici faktör (EDHF) ise henüz tanımlanmamış olmakla beraber, çeşitli kan damarlarının gevşemesinde önemli bir rol üstlenmektedir (2,3) (Şekil 1).

EDRF-NO

Furchgott ve Zawadski ilk olarak 1980 yılında izole arterlerde asetil koline (ACh) vazodilatör yanıtın gelişebilmesi için endotel varlığının gerekliliğini ortaya koymuşlardır. Salvador Moncada ise 1987 yılında endotel kökenli gevşetici faktörün (EDRF) nitrik okside (NO) özdeş olduğunu bulmuştur. Bir yıl kadar sonra NO in biyolojik öncül maddesinin L-arginin olduğu bulunmuş, ardından L-arginini NO'e dönüştüren nitrik oksid sentaz (NOS) enzimi saflaştırılarak klonlanmıştır. NOS'lar sitokrom P₄₅₀ benzeri hemoproteinler olup redüktaz ve oksijenaz katalik bölgesi içeren, tek enzim oldukları bildirilmektedir (4). Bugün NOS'ların constitutive-NOS (cNOS) ve inducible-NOS (iNOS) olmak üzere iki izoenzim grubundan oluştuğu bilinmektedir. Constitutive enzimlerden nöronlarda bulunan nNOS-Tip I NOS, endotel hücresinde bulunan eNOS-Tip III NOS olarak tanımlanırken, inducible NOS Tip II NOS olarak ifade edilmektedir. iNOS, α IFN, IL-1, TNF gibi sitokinlerin etkisi ile makrofajlarda, birçok parankim hücresinde ve endotel hücresinde bulunmaktadır (5-7).

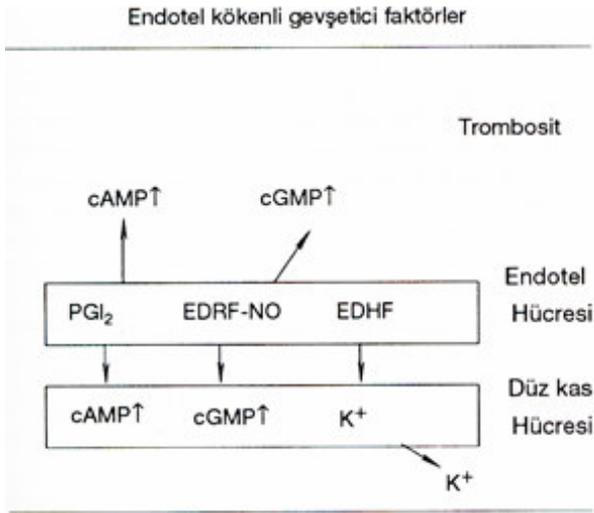
EDRF-NO Sentez ve Metabolizması

Nitrik oksid, NOS varlığında L-arginin ve moleküler oksijen dönüşümünden meydana gelmektedir. NO sentezindeki hız kısıtlayıcı basamak, substrat yeterli olduğu sürece NOS'ın ekspresyonu ve aktivitesidir.

Vasküler endotelde bulunan cNOS, kalsiyum kalmodulin bağımlı bir enzim olup, kofaktör olarak NADPH, tetrahidrobiopterin ve redükte glutatyonu ihtiyaç duymaktadır. L-arginini esas prekürsör olmasına karşın, L-OH arginin ve arginin içeren küçük peptidlerin de NOS için etkin substratlar olduğu bildirilmiştir (6). Vasküler NO sentezi endotelde kısıtlı olmayıp, kültürdeki vasküler düz kas hücrelerinde de iNOS'ın varlığı gösterilmiştir. Ancak bu izoenzim fizyolojik ve fizyopatolojik önemi henüz açıklık kazanmamıştır (6).

Geliş Tarihi: 02.01.1995

Yazışma Adresi: Sara HABİF
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya ABD, İZMİR



Şekil 1. Endotel kökenli gevşetici faktörler ve etki mekanizmaları.

NO'in inaktivasyonu, muhtemelen hücre içinde ve dışında proteinlere bağlanması ile ilişkilidir. NO'in hem grubuna yüksek bir affinitesi vardır ve NOS, siklooksijenaz, guanilat siklaz, solunum zincirleri enzimleri gibi hem grubu içeren çeşitli proteinlerin-SH gruplarına bağlanabilir. Bazı araştırmacılar NO'in aktif formunun NO in bir tiol türevi olduğunu iddia etmektedirler (6). Vücutta, hücre içi ve dışındaki bağlantıların doygunluk derecesi, NO sentez ve yıkılımı ile denge halindedir. NO sentezinin arttığı ya da yıkılımının azaldığı durumlarda, NO'in spesifik olmayan proteinlere bağlanması da daha fazla olmaktadır.

NO molekülünün hem grubuna bağlanması ile birlikte yıkılımı da başlamaktadır. Damar duvarlarından lümeneye doğru diffüze olan NO, hızla eritrositler tarafından tutularak oksijenlenmiş (HbO₂) ya da oksijenlenmemiş olan hemoglobine bağlanır. HbO₂'ye bağlanan NO hızla nitrat iyonuna dönüşürken, yan ürün olarak methemoglobin meydana gelir. Oksijenlenmemiş hemoglobin ile birleşen NO ise nitrosohemoglobin (HbNO) molekülünü oluşturur. NO'in eritrositlere bağlanma mekanizması, olayın arter ya da vende meydana gelişine, oksijen saturasyonuna bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (6). HbNO ılımlı miktarlarda oluştuğu süreçte oksijen basıncının arttığı konumlarda nitrat ve methemoglobine dönüşebilir (ör., pulmoner damar yatağından geçerken).

NO'in kandaki en son metaboliti nitratdır. Beyin omurilik sıvısı gibi eritrosit içermeyen ortamlarda ise nitrat ve nitrit dönüşümü eşit düzeydedir. Eritrositlerde oluşan nitrat, plazmaya taşınarak glomerüler filtrasyon yolu ile uzaklaştırılmaktadır. Nitrat klirensi oldukça yavaş olup (20 ml/dk), düşük klirensin bir sonucu olarak yarılanma ömrü 1-15 saat kadar uzundur (6).

EDRF-NO Salınımını Etkileyen Faktörler:

Vasküler endotelde EDRF-NO salınımı bazal ve uyarılmış olmak üzere iki şekilde olabilmektedir. EDRF-NO salınımının uyarılması reseptör bağımlı (ör., Ach, ATP, bradikinin) ya da reseptör bağımlı olmayan agonistler (ör. kalsiyum iyonoforları, polikasyonlar, Ca²⁺ ATPaz inhibitörleri) aracılığı ile olabilir. Fiziksel uyarılar (ör., shear-stres) ve düşük pO₂'de fizyolojik olarak var olan ve EDRF-NO salınımını arttıran en önemli mekanizmalardır (1,4,5,7).

Bazal salınım: Doğal endotel hücrelerindeki EDRF-NO salınımının büyük bir bölümünü bazal salınım oluşturmaktadır. Kültürlerdeki endotel hücrelerinde bazal salınımın çok daha az düzeylerde olması, doğal hücrelerin sürekli olarak shear stres gibi uyarılara maruz kaldığını göstermektedir (8). Ayrıca ekstrasellüler kalsiyumun tamamen ortadan kaldırılması ile bazal EDRF-NO salınımının sadece %40 oranında azalması, endotel hücresinde kalsiyuma bağımlı olmayan NOS'ların varlığını desteklemektedir. Bu NOS'ların kaynağının muhtemelen yakındaki damar duvarında sürekli olarak var olan sitokinler olabileceği varsayılmaktadır (8).

Agonistlerin ile uyarılan salınım: Hücre içi serbest kalsiyum konsantrasyonlarında ([Ca²⁺]_i) olan artış, reseptör bağımlı ya da bağımlı olmayan yollar ile EDRF-NO salınımına neden olmaktadır. Çeşitli çalışmalar agonistler ile uyarılan [Ca²⁺]_i artışının, geçici olarak inositol-1,3,4-trifosfat (IP₃) aracılığı ile hücre içi depolardan Ca²⁺ salınımına ve daha uzun süreli olarak da hücre içerisine ekstra sellüler ortamdan kalsiyum girişine bağlı olduğunu göstermiştir (4). IP₃, protein kinaz C'yi aktive ederek hücre içi depolardan Ca²⁺ salınımına aracılık etmektedir (1,2). Ca²⁺un hücre içine giriş yolları ise henüz tam olmayan katyonik kanalları kapsamaktadır. IP₃'in fosforillenmesi ile meydana gelen inositol-1,3,4,5-tetrafosfat (IP₄) muhtemelen hücre membranında kalsiyuma geçirgen olan kanalları aktive etmekle ve sonuçta hücre içine kalsiyum girişi artmaktadır (1,4,8). Ancak bradikinin (Bk) ile uyarılan kültürdeki endotel hücrelerinde IP₃ ve IP₄ düzeyleri 10 dk içerisinde bazal değerlere ulaşırken hücre içerisine Ca²⁺ akışının sürmesi bradikinin ile uyarılan endotel hücrelerinde etkin yolun bu olmadığını ortaya koymaktadır (8).

Reseptör bağımlı EDRF-NO salınımında reseptörler ile fosfolipaz C arasındaki ilişkiyi sağlayan G proteinlerinin bir bölümü endotelde kalsiyuma duyarlı potasyum kanallarını aktive edebilme özelliğine sahiptir (1). Endotel hücresinde doğrudan G proteinlere bağlanmayan, membrana bağlı reseptörler de mevcut olup büyüme faktörleri aracılığı ile uyarılmaktadırlar (ör., PDGF, VEGF). Bu faktörler sahip oldukları tirozin kinaz aktivitesi aracılığı ile fosfolipaz C1'i aktive ederek etkin olmaktadır (1).

Shear Stres ile uyarılan salınım: Endotel hücresinin plazma membranı, hücre gerildiği zaman hücre içine Ca²⁺ girişine olanak sağlayan mekanosensitif bir katyon kanalı içermektedir (1). Endotel hücresinde mediatör

salınımının aktive olmasına yol açan shear strese duyarlı bir K^+ kanalı da tanımlanmıştır (9). Kültürdeki endotel hücrelerinde kan akımının ATP, Substans P, Ach salınımını arttırması nedeni ile Shear strese EDRF-NO yanıtının bu agonistler aracılığı ile düzenlediği varsayılmaktadır. Günümüzde substans P'nin insan koroner vasküler yatağındaki en güçlü NO salıcı bileşik olduğuna dair veriler giderek artmaktadır (8,10). Shear stres ile artan kinin salınımı da bradikinin aracılığı ile EDRF-NO salınımını arttırabilmektedir (8).

Sığır, domuz, insan endotel hücrelerinde CNOS'ın sıklıkla plazma membranı ve endoplazmik retikulumda lokalize olması, NOS'ın kalsiyuma bağımlı olmadan, shear stresin membran akışkanlığında oluşturduğu değişikliklerden kaynaklanan konformasyonel bir değişimle aktive olabileceğini göstermektedir (4). Ancak böyle bir mekanizma endoteldeki katyon kanallarının shear stres ile aktive olmasını da engellememektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, shear stresin algılanmasında membran glikoprotein ve glikolipidlerinin etkin olabileceğini göstermektedir (4).

Hipokside EDRF NO salınımı: Bugüne kadar yapılmış olan araştırmalar, hipoksinin endotel-vasküler düz kas etkileşiminde çeşitli etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Hipoksiye gelişen yanıt hipoksi derecesine, süresine, etkilenen arterin lokalizasyon ve boyutuna bağlı olarak değişebilmektedir (11). Hipokside EDRF-NO ve PGI_2 gibi vazoaaktif otakoidler salgılanmaktadır. Bu salınımın en büyük destekçisi hipokside kültürdeki endotel hücrelerinde $[Ca^{2+}]_i$ un artışıdır ve bu artış ekstrasellüler Ca^{2+} varlığına bağlıdır. Hipokside K^+ kanal iletkenliğinin artması da hücre içi Ca^{2+} düzeylerinin yükselmesinde etkili olmaktadır (11). Pulmoner damarlarda hafif bir hipokside küçük damarlarda EDRF-NO, PGI_2 salınımına bağlı olarak gevşeme olurken, büyük damarlar etkilenmemekte proksimal arterlerde ise EDRF-NO aktivitesinde azalmaya bağlı olarak kasılma olmaktadır (11). Anokside ise EDRF-NO sentez ve salınımının azalmasına bağlı olarak ve kasıcı faktörlerin etkisi ile vazokonstrüksiyon gelişmektedir. Distal arterlerde daha sonra endotel kökenli olmayan bir gevşeme oluşabilmektedir (11).

Son yıllarda yapılmış olan bazı araştırmalarda, tromboksan $A_2(TXA_2)$ gibi güçlü vazokonstrüktör bileşiklerin de EDRF-NO salınımına yol açtığı ve bu etkinin muhtemelen endotelde yerleşmiş olan farklı bir reseptör aracılığı ile olduğu ileri sürülmektedir (12).

EDRF-NO'nun etkileri:

Vasküler lümenin aksi yönde difüze olan EDRF-NO, vasküler düz kas hücrelerine girerek sitozolik solubl guanilat siklazın hem grubuna bağlanır. Konformasyonel bir değişim ile aktive olan guanilat siklaz, $GTP \rightarrow cGMP$ dönüşümünü katalizler. Hücre içinde artan cGMP'in etkisi ile, hücre içinde kalsiyum bağlantısı artarak, hücredeki kasıcı elemanların gevşemesi sonucunda vazodilatasyon meydana meydana gelir. Luminal yönde diffüze olan EDRF-NO ise dolaşımda inaktif olarak yıkılıma uğrar. Ancak bir miktar EDRF-NO trombositlere

girerek cGMP üzerinden trombosit agregasyonunu ve trombositlerin endotel yüzeyine adezyonunu inhibe eder, ayrıca monosit ve nötrofillerin endotel yüzeyine adezyonunu inhibe ederek antienflamatuar bir ajan gibi etkili olur (1,7). EDRF-NO, LDL'nin atrojnik özellikleri olan okside-modifiye LDL'ye (ox-LDL) oksidatif modifikasyonunu da engeller. EDRF-NO inhibitörleri ile aterosklerotik lezyon gelişiminin artması ve NO prekürsörü olan L-argininin lezyon gelişimini inhibe etmesi, endotelin koruyucu rolünde EDRF-NO'nun katkısını ortaya koymaktadır (1). Ayrıca endotel hücrelerinde EDRF-NO aracılığı ile oluşan antiproliferatif etkinin, ateroskleroz gelişimi sırasında meydana gelen düz kas hipertrofisini engellediği bildirilmiştir (13). EDRF-NO'nun fibroblastlarda ve kültürdeki düz kas hücrelerinde mitogenezi inhibe etmesi de bilinen etkileri arasında yer almaktadır.

Patolojik derecelerde artan EDRF-NO ise (ör., endotoksik şok) belirgin bir vazodilatasyon ve hatta şoka neden olabildiği gibi azalan trombosit aktivitesine bağlı olarak homeostazisi bozabilmektedir (6). Yapısal proteinler ile kompleks oluşturan NO'in glomeruler bazal membran ve matrikse zarar verebileceği de öne sürülmektedir (5).

PROSTASİKLİN (PGI_2)

Moncada ve Vane, 1976 yılında prostaglandin endoperoksidlerinin, mikrozomal bir enzim aracılığı ile, vazodilatör özellikleri olan, trombosit agregasyonunu inhibe eden PGI_2 'e dönüştüğünü tanımlamışlardır. PGI_2 kandaki düzeylerinin, genel bir etki oluşturmak için çok düşük olması nedeni ile (salındığı bölgede 3 pg/mL) lokal bir hormon olarak etkili olmaktadır. PGI_2 'nin fizyolojik pH'daki yarılanma ömrü ~3dk iken, invivo yarılanma ömrü bir dolaşım süresinden daha kısadır (13,14).

Prostasiklinin sentez ve metabolizması:

İnsanları da içeren memelilerin birçoğunda, PGI_2 membran fosfolipidlerinden fosfolipaz A_3 enzimi aracılığı ile salınan araşidronik asitten meydana gelmektedir. Fosfolipaz A_2 'nin aktive olması ise muhtemelen hücre içi depolardan salınan Ca^{2+} aracılığı ile olmaktadır. Araşidonik asidi metabolize eden sikloosigenaz enzimin (COX) kan damarlarındaki en önemli metaboliti ise PGI_2 'dir. Günümüzde COX'ın en az iki izoformunun olduğu bilinmektedir. Constitutive olan enzim COX₁, enflamatuar yanıt ile uyarılan ise COX₂ olarak tanımlanmıştır (1). Prostasiklin sentezindeki son enzim ise prostasiklin sentazdır ve kalsiyuma bağımlı olmadığı gibi, spesifik bir kofaktöre de ihtiyaç duymamaktadır. Enzimin aktivite göstermesinde sadece substratı olan PGH_2 düzeyleri etkili olmaktadır (1,4). Endotel hücreleri dışında, vasküler düz kas hücrelerinde de PGI_2 sentez edilebilmektedir. Büyük arterlerdeki endotel hücreleri araşidonik aside maruz kaldıklarında, kapiller damarlardan daha fazla PGI_2 üretmektedir (7).

Prostasiklin enzimatik olmayan bir yol ile, hızla 6-

keto-PGF_{1a}'ya yıkılmaktadır. PGI₂'nin idrarla atılan hidro-liz ürünleri 2,3-dinor-6-keto PGF_{1a} ve 6,15-diketo-2,3 dinor-6-oxo-PGF₁ a'dır. Bu ürünlerin hepsi stabil olup, prostasiklinin idrarla atılan en önemli metabolitleridir ve PGI₂ sentezinin en güvenilir göstergeleri olarak kabul edilirler (15).

Prostasiklin sentez ve salınımını etkileyen faktörler:

Mekanik güçler (ör., shear stres): Hücre membranının mekanik olarak uyarılması fosfolipaz A₂'nin aktive olması ile araşidonik asit salınımını ve PGI₂ sentezini artırır. Pulsatil akım, sürekli akıma kıyasla iki katından fazla PGI₂ salınımına neden olmaktadır. PGI₂ salınımını uya-ran shear stresin miktarı EDRF-NO salınımı için gerekli olandan daha fazla olup, bu durum PGI₂'nin hücre içi Ca²⁺ artışına daha az duyarlı olması ile açıklanmaktadır (8). Shear stres, histamin ile uyarılan PGI₂ sentezini de arttırmakta ve bunu pertussis toksinine duyarlı G proteinler aracılığı ile yapmaktadır (4).

İyonik değişimler: Bir kalsiyum iyonoforu olan A23187 kültürdeki endotel hücrelerinde PGI₂ salınımına yol açmaktadır. Ekstrasellüler Ca²⁺ konsantrasyonlarındaki düşme ise PGI₂ salınımını azaltmaktadır. Kalsiyum kanal blokerlerinin PGI₂ üretimini arttırabildikleri de ileri sürülmektedir (13).

Nörohümmöral mediatörler: Kültürdeki endotel hücrelerinde PDGF, trombin ve bradikinin PGI₂ üretimini arttırmaktadırlar. Ach, Ang II; histamin, EDGF, IL-1 ve adenin nükleotidler ise endotelde prostanooid üretimini arttıran mediatörlerdir. Endotelin ise ET β reseptörleri üzerinden PGI₂ ve EDRF-NO'ün sentez ve salınımını arttırmaktadır (7,14). Invitro olarak TxA₂ reseptörlerinin uyarılması sonucunda PGI₂ sentezinin uyarıldığı da bildirilmiştir. Böylece TxA₂ sentezindeki artışın ardından PGI₂ üretiminin artması TXA₂/PGI₂ oranının korunmasını sağlamaktadır (15).

Prostasiklinin Etkileri:

Prostasiklin hücre içindeki adenilat siklaz enzimini aktive ederek vasküler düz kas hücreleri ve trombositlerde cAMP düzeylerinin artmasına yol açmakta ve etkilerini bu mediatör üzerinden gerçekleştirmektedir.

PGI₂, damar abluminal yüzünde düz kas gevşemesine neden olurken, luminal yüzde trombositlerin ve muhtemelen diğer hücrelerin de lümene yapışmasını engellemektedir. Ancak büyük ve küçük damarlarında PGI₂'in aracılığı ile uyarılan vazodilatasyon EDRF-NO ile uyarılandan daha zayıftır. PGI₂'nin vazodilatör etkisinin endotel varlığında artmış olması PGI₂ ve EDRF-NO'ün sinerjistik olarak etkilendiklerini desteklemektedir. Çalışmalarda elde edilen verilere göre EDRF-NO'ün spesifik bir cAMP fosfodiesterazı endojen olarak inhibe ederek, cAMP yıkılımını geciktirmesi ve adenilat siklaz aktivatörlerinin salınımını arttırması muhtemeldir (4). PGI₂'nin trombosit agregasyonunu engelleyici etkisi de EDRF-NO ile sinerjistik etkileşim göstermekte ve her birinin eşik altı değerleri diğerinin etkilerini belirgin dere-

cede arttırmaktadır (7,6). Prostasiklin düz kas hücrelerinde kolesterol esterlerini metabolize eden enzimlerin aktivitesini arttırarak, kolesterol esterlerinin makrofajlarda birikimini engellemekte ve damar duvarının kalınlaşmasına neden olan büyüme faktörlerinin salınımını engellemektedir (1,1,3,17). Prostasiklin ayrıca trombosit aktivasyonunu da baskılamaktadır (1,13). Hayvan beyin ve kalbinde post iskemik reperfüzyon hasarını engelleyici etkileri olan PGI₂'nin kardiyak monositleri hipoksik hasara karşı, glial hücre ve nöronları anoksik hasara karşı, hepatositleri ise kimyasal hasara karşı koruyucu etkileri olduğu bildirilmiştir (17,18). PGI₂ monositlerde doku faktörünün ekspresyonunun da azaltılmaktadır (17).

Endotel Kökenli Hiperpolarize Edici Faktör (EDHF)

Birçok damarda Arh ve vazopressine yanıt olarak meydana gelen endotel kökenli gevşemeler, L-argininin NO yolu inhibitörleri (oksi Hb, metilen mavisi) ve siklooksijenaz inhibitörleri ile ortadan kaldırılabilece de bazı damarlarda, özellikle de küçük çaplı olanlarda bu mümkün olamamaktadır (16,19,20). İzole edilmiş insan koroner arterlerinde endotel kökenli gevşemenin bir miktarının NOS ve siklooksijenaz inhibitörlerine dirençli olması da EDRF-NO ve PGI₂'den farklı olan hümmöral, diffüze olabilir bir mediatörün varlığını desteklemektedir. Bu etkilerden sorumlu olan en muhtemel faktör ise EDHF'dir.

EDHF'nin kimyasal yapısı henüz aydınlatılamamıştır. Ancak labil bir sitokrom P₄₅₀ metaboliti olabileceği ileri sürülmektedir (21,22). Birçok araştırmacının endotel hücrelerinde salınan EDHF aracılığı ile vasküler düz kas hücrelerinin hiperpolarize olduğunu ileri süren hipotezlerine karşın, bu olayın endotel ve düz kas hücreleri arasındaki elektronik etkileşimden de kaynaklanabileceği bildirilmektedir (22).

İlk olarak, asetil kolinin kökenli hiperpolarizasyon oluşturduğu bulunmuş (M₁ ve M₃ reseptörleri aracılığı ile), daha sonra farklı dokularda farklı mediatörlerin aynı etkiyi oluşturabileceği gösterilmiştir. Bradikinin, adenin nükleotidler, histamin, trombin ve substans P bu mediatörler arasında yer almaktadırlar (16). Bradikininin vasküler dokularda en az iki reseptörü bulunmaktadır. B2 subtipi endotel hücrelerinde birinci derece önemli olanı olup, EDHF salınımına aracılık etmektedir. B2 reseptörleri G proteinlere bağlanarak fosfolipaz C üzerinden etkili olmakta ve hücre içi kalsiyum düzeylerini arttırmaktadırlar. Bradikinin B₁-B₂ reseptörlerinden bağımsız olarak ta doku mast hücrelerinde G proteinleri doğrudan aktive edebilmektedir (23). Sentetik K⁺ kanalı açıcıları da bradikinin ile uyarılan hücre içi kalsiyum mobilizasyonunu arttırabilmektedirler (2,24). Köpek koroner arterlerinde NO salınımının sürekli olarak uyarılması ve cGMP düzeylerinin artması bradikinin aracılığı ile oluşan EDHF kökenli gevşemeleri inhibe etmektedir (21). Bradikinin aracılığı ile oluşan hiperpolarizasyon özellikle sülfhidril grubu içeren ACE inhibitörleri ile uyarılmaktadır. Hayvan çalışmalarının yanı sıra insan

koroner arterlerinde de, bradikinin ve kalsiyum iyonoforu A23187'ye yanıt olarak hiperpolarizasyon gelişmiştir (19,25). A23187'ye yanıt olarak EDHF salınması, olayın muhtemel kalsiyum-kalmodulin bağımlı olduğunu göstermektedir (16,19). Köpek ve domuz koroner arterlerinde EDHF üretiminin kalmodulin antagonistleri ile inhibe edilmesi de bunu desteklemektedir (2,19). Hücre içi depolardan salınan Ca^{2+} muhtemelen başlangıçtaki geçici hepirpolarizasyona, dış ortamdan hücre içine Ca^{2+} girişi ise daha uzun süreli olan bir hiperpolarizasyona aracılık etmektedir.

EDHF arteriyel düz kastaki hiperpolarize edici ve gevşetici etkisini K^+ kanallarını aktive ederek oluşturmaktadır. Hiperpolarizasyona aracılık eden K^{2+} kanalı tipi, türler, dokulara ve kullanılan endotel uyarıcısına bağlı olarak değişmektedir (2, 22,25). Örneğin, EDHF sıgır aortik endotel hücrelerinde Ca^{2+} ile aktive olan K^+ kanallarını uyarırken, tavşan orta serebral arterinden salınan EDHF, ATP duyarlı K^+ kanallarını etkilemektedir. Köpek koroner damar endotel hücrelerinden salınan EDHF ise Na-K-ATP_{az} üzerinden etkili olmaktadır (22). EDHF aracılığı ile oluşan hiperpolarizasyonunun şiddeti lineer olmasa da ekstrasellüler $[K^{2+}]_a$ bağılıdır (22).

EDHF'nin henüz izole edilmemiş olması nedeni ile hiperpolarizasyon dışında bir etkisinden söz etmek doğru değildir, ancak sentetik K^+ kanalı açıcıları ile bazı varyasyonlarda bulunabilmektedir. K^+ kanalını açan ajanlar aracılığı ile meydana gelen hiperpolarizasyon, voltaj bağımlı Ca^{2+} 'un mobilizasyonunun inhibe etmektedir (2). Bu nedenle EDHF aracılığı ile gelişen hiperpolarizasyonun, vasküler düz kas hücresindeki Ca^{2+} 'un mobilizasyonunu engelleyebileceği ileri sürülmektedir. Bu olay, endotel hücresinde hiperpolarizasyona bağlı olarak hücre içine Ca^{2+} girişinin kolaylaşmasına zıt bir etkidir (2). EDHF aracılığı ile oluşan yanıtlar büyük, elastik arterlerin aksine sıklıkla musküler ve küçük arterlerde meydana gelmektedir.

EDHF salınımını fizyolojik ve fizyopatolojik koşullarda etkileyen mekanizmalar henüz bilinmemektedir, ancak köpek koroner arterlerinde egzersiz sonrasında EDHF aracılığı ile gelişen yanıtlar artmış olarak saptanmıştır (2).

Bazı Patolojik Durumlarda Endotel Kökenli Gevşetici Faktörler

Koroner risk faktörleri olarak tanımlanan diabetes mellitus, hiperlipidemi, hipertansiyon gibi hastalıklarda, endotelin vasküler tonüsü düzenleyici fonksiyonlarının hasara uğradığı bilinmektedir (4,7). Bu hasar koroner damarların dışında sistematik olarak da gözlenebilmektedir. Plazmadaki lipoproteinlerin endotel hücresindeki EDRF-NO oluşumu inhibe etmesine ya da prekürsör L-arginin veya NOS aktivitesinin azalmasına bağlı olarak, endoteldeki fonksiyon bozuklukları aterosklerotik lezyonların ortaya çıkmasından çok önce başlamaktadır (6).

(6). Damar duvarında oluşan lipid peroksidasyonu da EDRF-NO'nin yıkım ve inaktivasyonuna neden olabilmektedir. İlginç olan bir hipotez ise hiperkolesterolemiye bağlı olarak uyarılan EDRF-NO oluşumunun azalmasıdır (1,6). Bu hipoteze göre, ateroskleroz belirginleştiği zaman artan oksijen radikallerine bağlı olarak EDRF-NO yıkılımı artmakta, ilerleyen dönemlerde ise düz kas hücresinin EDRF-NO'ye yanıtını azaltmaktadır (6,26). Aterosklerozda EDRF-NO'nin aksine vasküler segmentlerde araşidonik asit salınımının artmasına bağlı olarak PGI₂ sentezi azalmayabilmektedir (14). Mikrovasküler anjina (Syndrome X) tanısı almış olan hastalarda ise plazma nitrat düzeylerinin normal şahıslardan düşük olması, bu hastalıkta EDRF-NO oluşumundaki bir yetmezliği desteklemektedir (6). Artan lipid peroksidasyonuna bağlı olarak prostasiklin sentezinin inhibe olması da endotel fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunmaktadır (27). Yapılan çalışmalarda aterosklerotik damarlarda PGI₂'nin hiperpolarize edici ve gevşetici faktörlerin salınımındaki katkısı normal düzeylerinin altında bulunmuş, bu olayın prostasiklin inaktivasyonundaki artışa ve damar duvarının PGI₂'e olan duyarlılığındaki azalmaya bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (27). HDL-Kolesterolün, yapısında yer alan Apo A-1 aracılığı ile PGI₂'i stabilize ettiği bilinmektedir. Anstabil anjina pektorisle ve miyokard enfarktüsü geçiren olgularda HDML yapısındaki Apo A-1 düzeylerinin düşük bulunması ise bu hastalarda PGI₂ etkinliğinin azaldığının bir göstergesidir (28).

Esansiyel hipertansiyonda endotel fonksiyon bozukluğunun ne derecede etkili olduğu tam olarak aydınlatılmamıştır. Hipertansif hastalarda Ach enfüzyonu ile ön kol kan akımında saptanılan artışın, normotansif kişilerden daha düşük bulunması ve nitroprussid enjeksiyonu ile olan kan akımı artışında böyle bir farklılığın bulunmamış olması, endotelde bir fonksiyon bozukluğunu desteklemektedir (6,29). Kronik hipertansiyonda periferik arterler ve serebral arteriollerde endotel kökenli gevşemenin bozulduğu, siklooksijenaz yolu inhibisyonunun ise bu bozukluğu giderebildiği bildirilmiştir (30). Anca endoteldeki fonksiyon bozukluğunun esansiyel hipertansiyonda birincil neden olması pek muhtemel değildir (29). Pulmoner hipertansiyonda ise komplikasyonların bir çoğundan PGI₂ aleyhinde olan değişimler sorumlu tutulmaktadır. Pulmoner hipertansiyonlu olgularda uzun süreli PGI₂ enfüzyonu ile belirgin bir düzelme saptanırken, balık yağı verilen sıçanlarda kronik hipoksinin neden olduğu pulmoner hipertansif etki kısmen engellenebilmektedir (15).

Diabetes mellitusta artmış olan kardiyovasküler morbidite ve mortalite multifaktöryel bir olay olup, aterom, hipertansiyon, mikroanjyopati gelişimini ve trombus oluşumunu kapsamaktadır. Klinik verilen diyabetin tipine bağlı olarak endoteldeki vasküler fonksiyonların değişebileceğini göstermektedir. Tip I diyabette yapılmış olan çalışmalar endotelde NO oluşumunda bir

yetmezlikten ziyade, düz kasta EDRF-NO'e olan duyarlılıkta bir azalmayı telkin etmektedir (6). Diyabetik hayvan ve insanlarda damar dokusunda PGI₂'e olan duyarlılığın azaldığı da bildirilmiştir (17). Tip II diyabette ise endotel ve vasküler fonksiyon bozukluğu bir arada gibi görünmektedir (6). Ayrıca penil ereksiyonda trabeküler kasta ve korpus kavernozumda olması gereken gevşemenin EDRF-NO aracılığı ile oluşması, diyabetik hastalarda empotanstan endoteldeki fonksiyon bozukluğunun sorumlu olabileceğini göstermektedir (6). Diyabette idrarda albumin atılımı ile endotel fonksiyon bozukluğu arasında da bir ilişki saptanmıştır. Bunun yanı sıra diyabette gelişen glikozilasyon ürünlerinin EDRF-NO aktivitesini bozduğu, *invivo* olarak gösterilebilmiştir (6).

Vasküler tonüsün düzenlenmesinde, oksijen konsantrasyonu da önemli bir faktördür. pO₂ düştüğünde endotel kökenli gevşemede bir azalma olmakta pO₂ yükseldiğinde ise olay hızla geri dönmektedir. Koroner damarları da kapsayan birçok kan damarında şiddetli hipoksi bazal EDRF-NO salınımının azalmasına bağlı olarak, kasılmaya neden olmaktadır (26). Koroner veya serebral arterlerin tam ya da kısmi tıkanmasının ardından reperfüzyona maruz kalmaları EDRF-NO sentezinde belirgin bir azalma oluşturmakta ve perfüzyonun erken dönemlerinde aşırı miktarlarda salınan O₂ radikallerine bağlı olarak EDRF-NO yıkılımı da artmaktadır (2,31).

Endotel kökenli gevşetici faktörler kardiyovasküler sistem dışında nörojenik bronşil gevşemede, bağırsak kaslarının gevşemesinde de etkilidirler. NO inhalasyonu bronkodilatasyona ve pulmoner kan damarlarında gevşemeye neden olmaktadır. NO donörleri ise GIS da bağırsak kası ve sfinkterlerde gevşeme oluşturmakta, korpus kavernozum ve uterusdaki düz kasları da gevşetmektedirler (32).

SONUÇLAR

EDRF-NO, PGI₂ ve EDHF vasküler tonüsün düzenlenmesinde etkili olan endotel kökenli gevşetici faktörlerdir. Bu faktörler vasküler düz kas hücreindeki etkilerini sırası ile cGMP, cAMP ve K⁺ kanallarının aktive olması ile oluşturmaktadırlar. Bu faktörlerin bazal salınımlarının yanı sıra, mekanik uyarılar, Ca²⁺ düzeylerindeki değişimler, hipoksi ve bazı mediatörler de salınımlarını etkilemektedir. Endotel kökenli gevşetici faktörlerin damar düz kası ve trombositler üzerindeki etkileri koroner risk faktörlerinin damar düz kası ve trombositler üzerindeki etkileri koroner risk faktörleri olarak tanımlanan çeşitli hastalıklarda azalmaktadır. Bu azalmanın nedeni; endotel kökenli gevşetici faktörlerin sentezlerinin azalması, inaktive oluş hızlarının artması, düz kas hücrelerinin bu faktörlere olan yanıtının azalması olabilir. Endotel kökenli gevşetici faktörlerin kardiyovasküler sistem dışındaki etkilerinin ise daha ayrıntılı olarak incelenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Flavahan NA, Vanhoutte H/PM. Endothelial cell signaling and endothelial dysfunction. *Am J Hypertens* 1995;8:285-415.
2. Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelium derived hyperpolarizing factor(s) and the potentiation of kinins by converting enzyme inhibitors. *Am J Hypertens* 1995;8:195-275.
3. Hong KW, Pyo KM, Lee WS, Yu SS, Rhim BY. Pharmacological evidence that calcitonin gene-related peptide is implicated in cerebral autoregulation. *Am J Physiol* 1994;266:11-6.
4. Busse R, Fleming I, Hecker M. Signal transduction in endothelium-dependent vasodilatation. *Eur Heart J* 1993;14:2-9.
5. Catell V. Nitric oxide-potential mediator in glomerulonephritis? *Nephrol Dia Transplant* 1995;10:759-61.
6. Venmalm A. Endothelial nitric oxide and cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;22:1-14.
7. Rubanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular disease. *Journal of Internal Medicine* 1994;245:317-27.
8. Busse R, Mülsch A, Fleming I, Hecker M. Mechanisms of nitric oxide release from the vascular endothelium. *Circulation* 1993;87:18-25.
9. Ohno M, Gibbons GH, Dzau VJ, Cooke JP. Shear stress elevates endothelial cGMP: Role of a potassium channel and G protein coupling. *Circulation* 1993;88:193-7.
10. Crossman DC, Larkin SW, Fuller RW, Davies GJ, Maseri A. Substance P dilates epicardial coronary arteries and increase coronary blood flow in humans. *Circulation*, 1989;80:475-84.
11. Kovitz KL, Aleskowitz TD, Sylvester JT, Flavahan NA. Endothelium-derived contracting and relaxing factors contribute to hypoxic responses of pulmonary arteries. *Am J Physiol* 1993;265:1139-48.
12. Guo-Wei H, Cheng-Qin Y. "Vasoactivators"- a new concept for naturally secreted vasoconstrictor substances. *Angiology* 1994;45(4):265-71.
13. Vane J. Regulatory function of the vascular endothelium. *New Eng J Med* 1990;323(1):27-36.
14. Mehta JL, Nicolini FA, Donnelly WH, Nichols W. Platelet-leukocyte-endothelial interactions in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1992;69:8-18.
15. Adatia I, Barrow SE, Stratton PD, Miall-Allen VW, Ritter JM, Haworth SG. Tromboxane A and prostacyclin biosynthesis in children and adolescents with pulmonary vascular disease. *Circulation* 1993;88:2117-22.
16. Vanhoutte PM. Other endothelium-derived vasoactive factors. *Circulation* 1993;87:9-17.
17. Vane JR, Botting RM. Formation by the endothelium of prostacyclin, nitric oxide and endothelin. *J of Lipid Mediators* 1993;6:395-404.

18. Vaage J, Valen G. Pathophysiology and mediators of ischemia-reperfusion injury with special reference to cardiac surgery. *Scand J Thor Cardiovasc Surg* 1993;41:1-18.
19. Nakashima M, Mombouli JV, Taylor AA, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarization caused by bradykinin in human coronary arteries. *J Clin Invest* 1993;92:2867-71.
20. Talor SG, Vaston AH. Endothelium derived hyperpolarizing factor; a new endogenous inhibitor from the vascular endothelium. *TIPS* 1988;9:272-4.
21. Wahl M, Schilling L. Regulation of cerebral blood flow-a brief review. *Acta Neurochir.* 1993;59:3-10.
22. Adaegbo ASO, Triggler CR. Varying extracellular [K⁺]: A functional approach to separating EDHF and EDNO-related mechanisms in perfused rat mesenteric arterial bed. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;21:423-9.
23. Dachman WD, Ford GA, Blaschke TF, Hoffman BB. Mechanism of bradykinin induced venodilation in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;21(2):241-8.
24. Regoli D, Jukic D, Gobeil F, Rhaleb NE. Receptors for bradykinin and related kinins: A critical analysis. *Can J Physiol Pharmacol* 1993;71(8):556-67.
25. Suzuki N, Chen G, Yamamoto Y. Endothelium derived hyperpolarizing factor (EDHF) *Jpn Circ J* 1992;56:170-4.
26. Mehta LJ, Fla G. Endothelium coronary vasodilatation and organic nitrates. *Am Heart J* 1995;129:382-91.
27. Siegel G, Reckborn K, Schnalke F, Müller J. Endothelial dysfunction in human atherosclerotic coronaryarteries. *European Heart Journal* 1993;14:99-103.
28. Kawai C. Pathogenesis of acute myocardial infarction. Novel regulatory systems of bioactive substances in vessel wall. *Circulation* 1994;90(2):1033-43.
29. Allister R, Vallance P. Nitric oxide in essential and renal hypertension. *J Am Soc Nephrol* 1994;5:1057-65.
30. Mayhan WG, Faraci FM, Bumbach GL, Heistad DD. Effects of aging on responses of cerebral arterioles. *Am J Physiol* 1990;258:1138-43.
31. Faraci FM. Endothelium-derived vasoactive factors and regulation of cerebral circulation. *Neurosurgery* 1993;33:648-59.
32. Vallance P. Nitric oxide in the clinical arena. *The Biochemist* 1994:23-7.