

Nitrik oksit sentezinin L-arjinin taşınması ve arjinazlar tarafından düzenlenmesi

Dr. Gökçe Topal

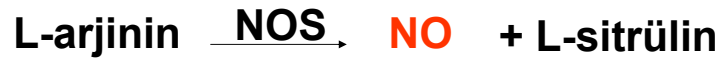
İ.Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Abd

Nitrik oksit ve kardiyovasküler sistem

NO

- ✓ Vazodilatör
- ✓ Antitrombotik
- ✓ Antiadhezif
- ✓ Antiproliferatif
- ✓ Antioksidan

Nitrik oksit



Nitrik Oksit Sentaz (NOS)

1) nNOS

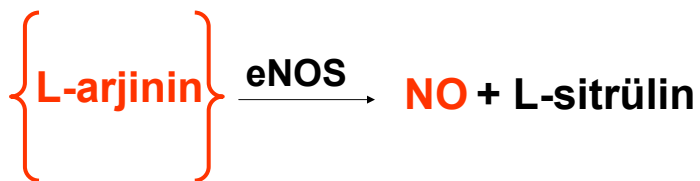
2) iNOS

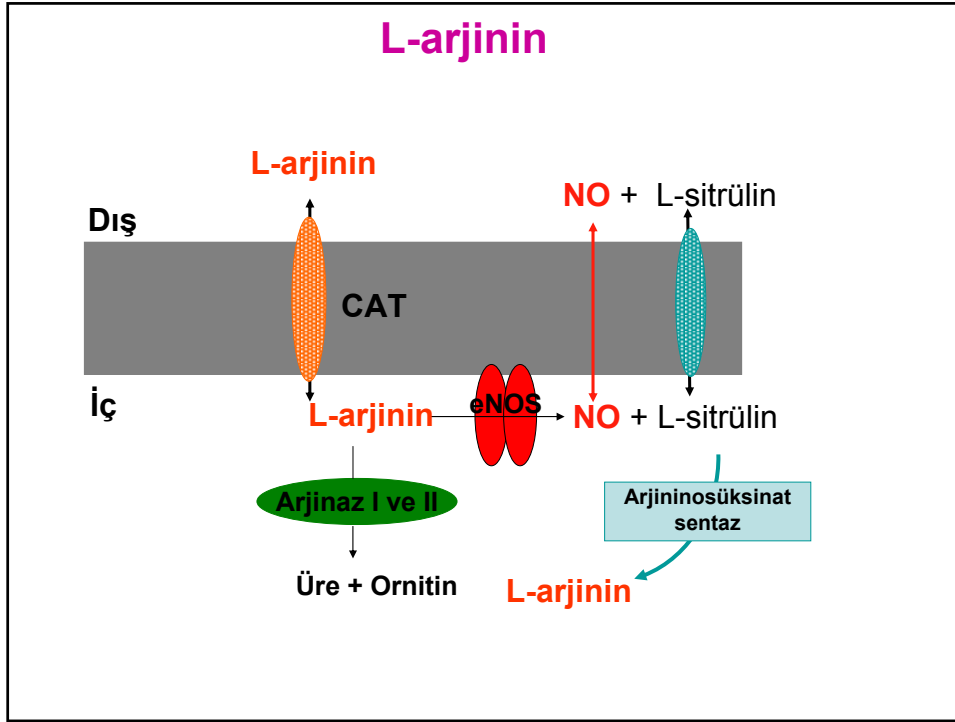
3) eNOS

Nitrik oksit

✓ Sentez

✓ Oksidatif stresle yıkımı





Deneysel hayvan modellerinde çalışmalar

İzole damarlarda **L-arjinin** endotel-bağımlı gevşemeyi artırıyor

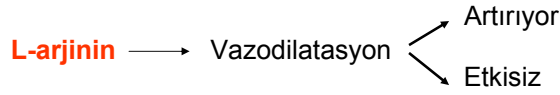
Hiperkolesterolemik tavşanlar

1992 Cooke ve ark.	L-arjinin	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="font-size: 2em; margin-right: 10px;">{</div> <div style="margin-right: 10px;">Gevşeme ↗</div> <div style="margin-right: 10px;">Ateroskleroz ↘</div> </div>
1998 Boger ve ark .	L-arjinin	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="font-size: 2em; margin-right: 10px;">{</div> <div style="margin-right: 10px;">NO ↗</div> <div style="margin-right: 10px;">Oksidatif stres ↘</div> </div>

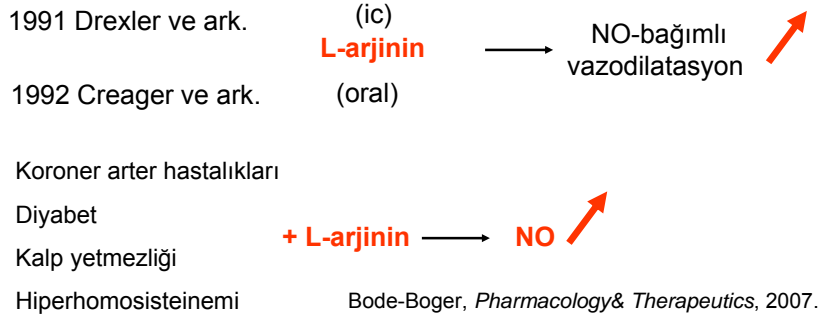
Tousoulis ve ark., *Nature Clinical Practice*, 2007

Klinik çalışmalar

Sağlıklı kişilerde



Hiperkolesterolemik kişilerde



L-Arginine therapy in cardiovascular pathologies: beneficial or dangerous?

Rainer H. Böger

Clinical Pharmacology Unit, Institute of Experimental and Clinical Pharmacology, University Hospital Hamburg-Eppendorf, Germany

Correspondence to Prof. Dr. med. Rainer H. Böger, Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20246 Hamburg, Germany. Tel: +40 42803 9759; fax: +40 42803 9757; e-mail: boeger@uke.uni-hamburg.de

Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 2008, 11:55-61

Purpose of review

L-Arginine is the precursor for nitric oxide synthesis. In the brain, nitric oxide acts as a neurotransmitter; in the immune system, nitric oxide acts as a mediator of host defense; in the cardiovascular system, nitric oxide mediates the protective effects of the intact endothelium, acting as an endogenous antiatherogenic molecule.

Recent findings

About 5 g of L-arginine is taken up each day. L-Arginine plasma levels are not significantly reduced in most diseases, except end-stage renal failure during hemodialysis treatment. Nonetheless, intravenous or oral administration of L-arginine results in enhanced nitric oxide elaboration in subjects with impaired endothelial function. In clinical trials short to medium-term administration of L-arginine improved the symptoms of cardiovascular disease. In other trials, however, L-arginine was not beneficial and in one recent long-term study higher mortality of subjects receiving L-arginine than those receiving placebo was reported. These contradictory results were not understood for a long time. The endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, asymmetric dimethylarginine, may determine a subject's response to L-arginine. L-Arginine appears to exert no effect in subjects with low asymmetric dimethylarginine levels, whereas in subjects with high asymmetric dimethylarginine levels L-arginine restores the L-arginine/asymmetric dimethylarginine ratio to normal and normalizes endothelial function.

Summary

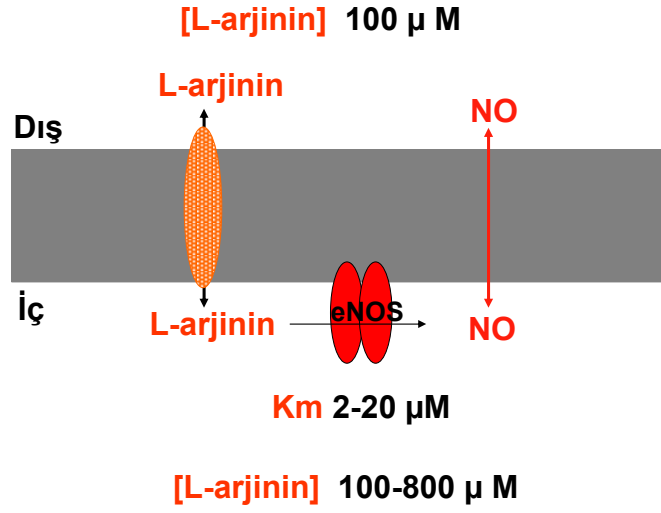
The effects of L-arginine supplementation on human physiology appear to be multicausal and dose related. Criteria need to be developed to define patients who benefit from L-arginine supplementation.

Keywords

asymmetric dimethylarginine, endothelium, nitric oxide, nitric oxide synthase

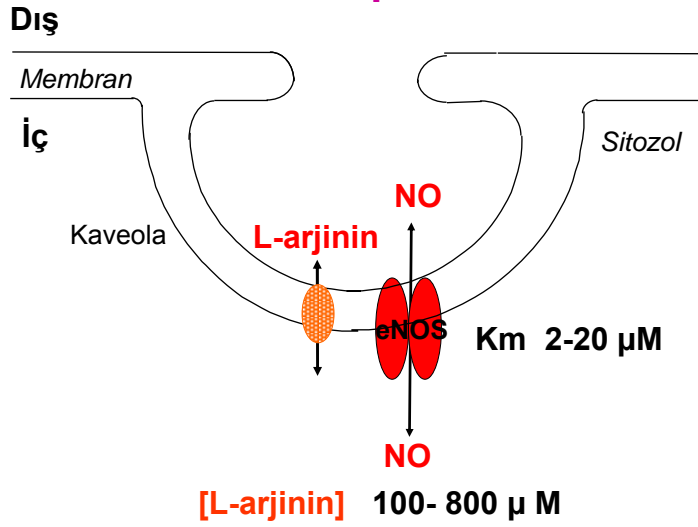
Curr Opin Clin Nutr Metab Care 11:55-61
© 2008 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins
1363-1950

L-arjinin paradoksu



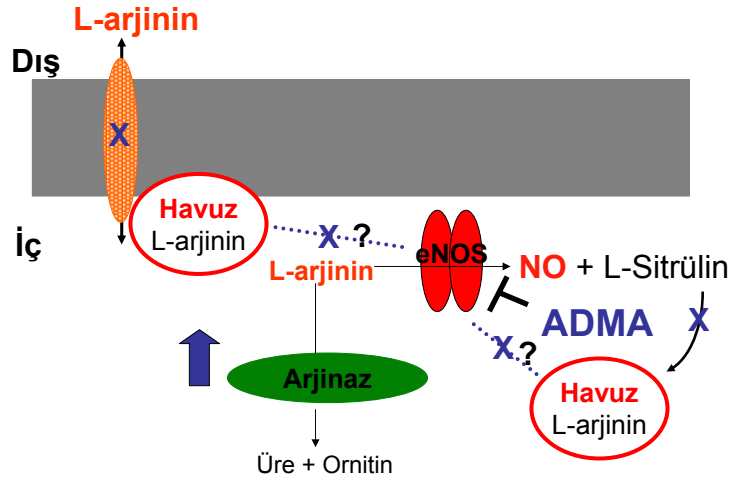
L-arjinin paradoksu

?

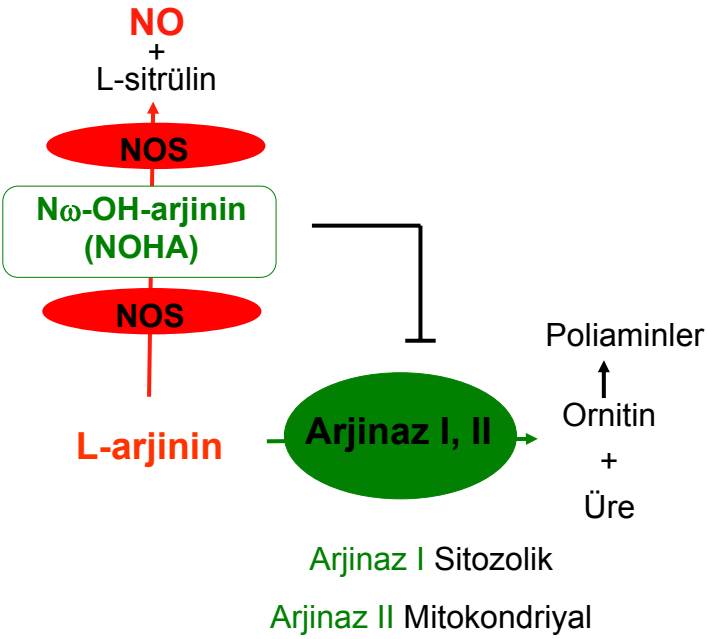


McDonald ve ark., J Biol Chem, 1997.

L-arjinin paradoksu ve endotel işlevsizliği



Arjinazlar



Arjinazlar

✓ İlk çalışmalar, inflamatuvar sitokinlerin → iNOS → **NO**

✓ 2000-Günümüze

Arjinazlar ve endotel işlevsizliği ≈ 60 çalışma (Pubmed)

Hipertansiyon

Hiperkolesterolemi

Yaşlanma

İskemi-reperfüzyon

Diyabet

Preeklampsi



Arjinazlara bağlı **NO** sentezinde azalma

Durante ve ark., *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007.

Amaç

I. Bölüm

eNOS'un etkinleşmesinde

✓ L-arjinin taşınmasının

✓ Arjinaz etkinliğinin rollerinin belirlenmesi

II. Bölüm

Lizofosfatidilkolin (LFK) ve 7-ketokolesterol gibi aterojenik lipitlerin

✓ L-arjinin taşınması

✓ Arjinaz etkinliği üzerine olan etkilerinin belirlenmesi

Materyal ve Yöntem

İnsan umbilikal veni endotel hücreleri (HUVECs)

N^{ω} -hidroksi-nor-L-arjinin (Nor-NOHA), Arjinaz inhibitörü

L-arjinin

L-lisin

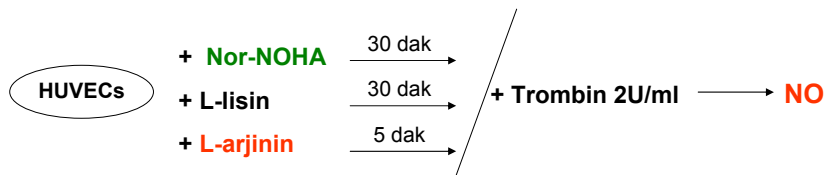
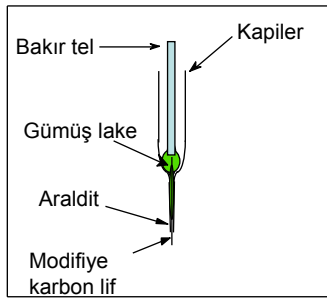
LFK

7-ketokolesterol

✓ Arjinaz I ve II mRNA Düzeyleri → rt-PCR

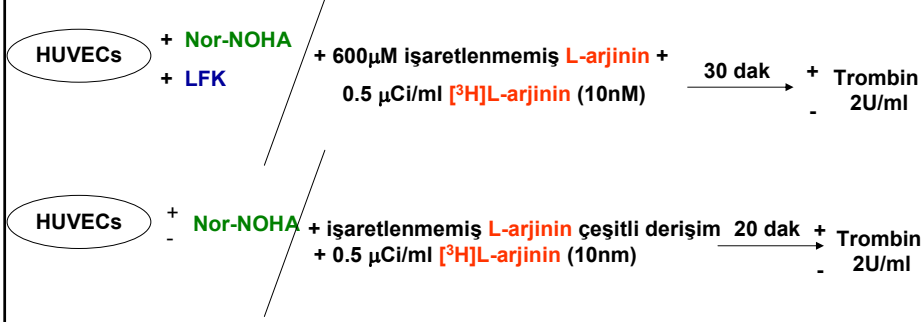
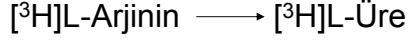
Materyal ve Yöntem

✓ Hücre yüzeyinde NO → porfirinik NO'ya selektif mikroelektrotlar ile elektrokimyasal yöntemle



Materyal ve Yöntem

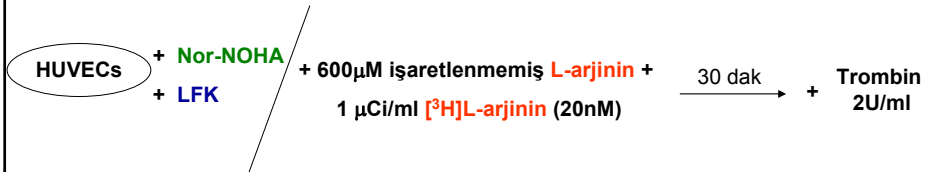
✓ Arjinaz Etkinliği



- Homojenatlarda [³H]-Üre ayrışması DOWEX 50WX8-400 (H⁺formu) katyonik reçine
- Sintilizasyon cihazında ölçüm

Materyal ve Yöntem

✓ NOS Etkinliği



- Homojenatlarda [³H]L- sitrülin ayrışması, DOWEX 50WX8-400 (Na⁺ formu) katyonik reçine
- Sintilizasyon cihazında ölçüm

Materyal ve Yöntem

✓ L-arjinin Taşınması

HUVECs + Nor-NOHA
+ LFK
+ 7-ketokolesterol / + işaretlenmemiş L-arjinin çeşitli deriş + 20 dak + Trombin
+ 0.5 µCi/ml [³H]L-arjinin (10nM) - 2U/ml

▪ Homojenatlarda [³H]L-arjinin miktarlarının sintilizasyon cihazında ölçümü

Sonuçların değerlendirilmesi ve istatistiksel analiz

- ✓ Veriler ortalama ± standart hata
- ✓ Çoklu karşılaştırmalar ve derişeme bağılı etkiler tek yönlü ANOVA ve sonrasında Fisher testi
- ✓ Farklı deneysel koşullar altında gerçekleştirilen derişe yanıt eğrileri ise iki yönlü ANOVA
- ✓ * p<0.05, ** p<0.01, ***p<0.001 istatistiksel olarak anlamlı

Bulgular

I. Bölüm

L-arjinin taşınması

Arjinazlar

eNOS

NO

II. Bölüm

LFK

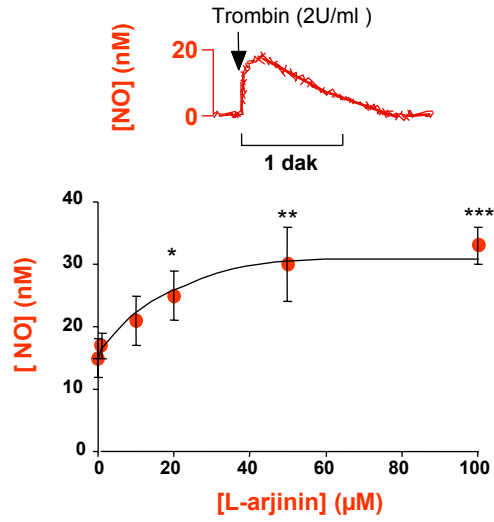
7-ketokolesterol

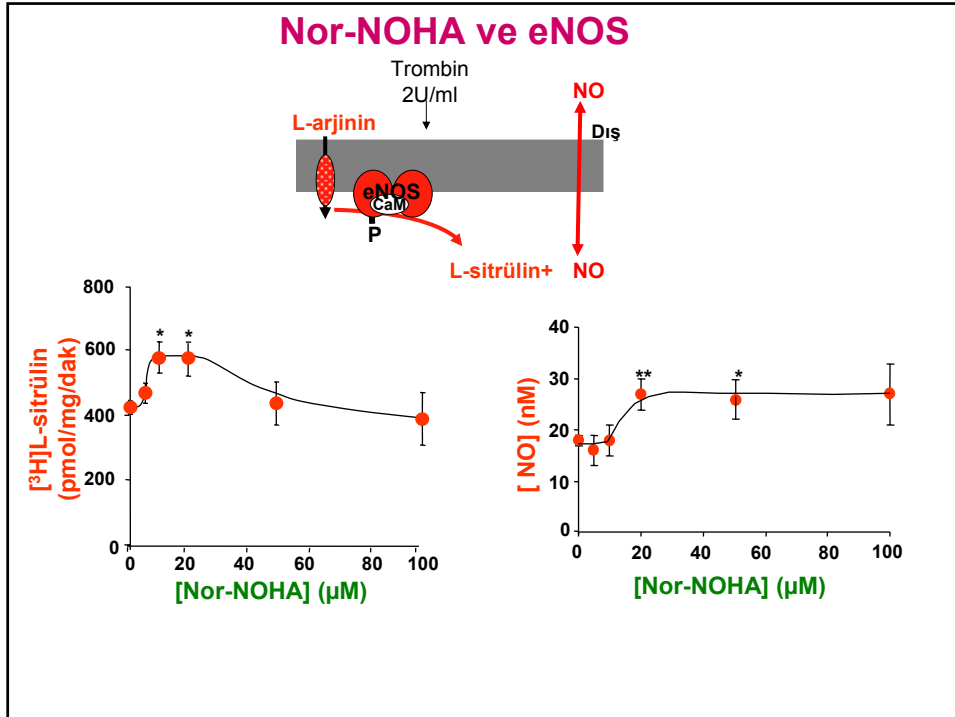
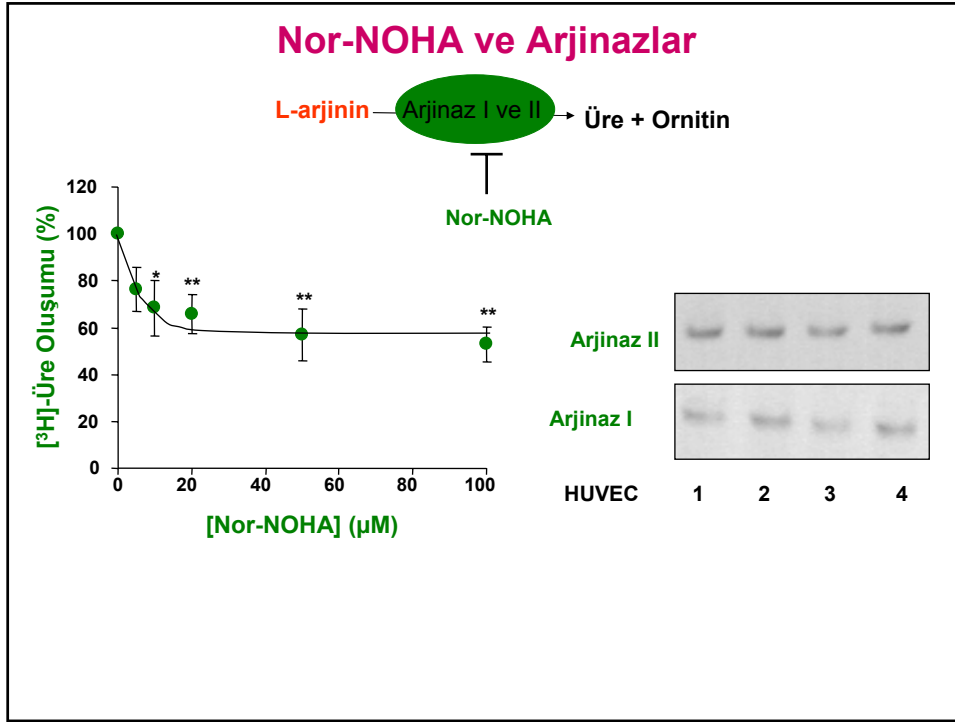
Arjinaz

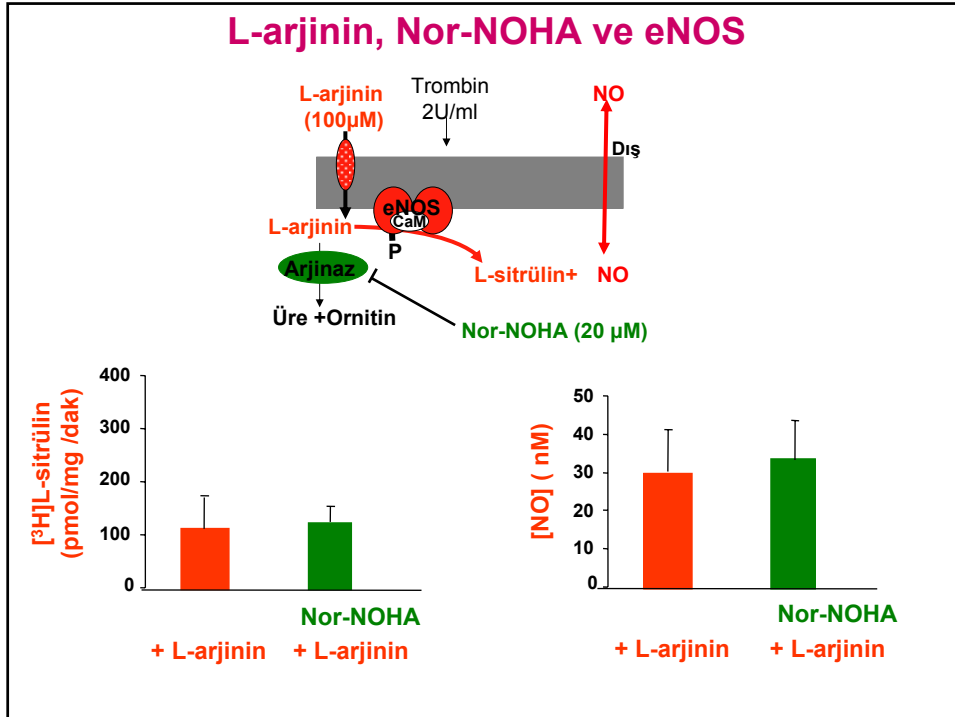
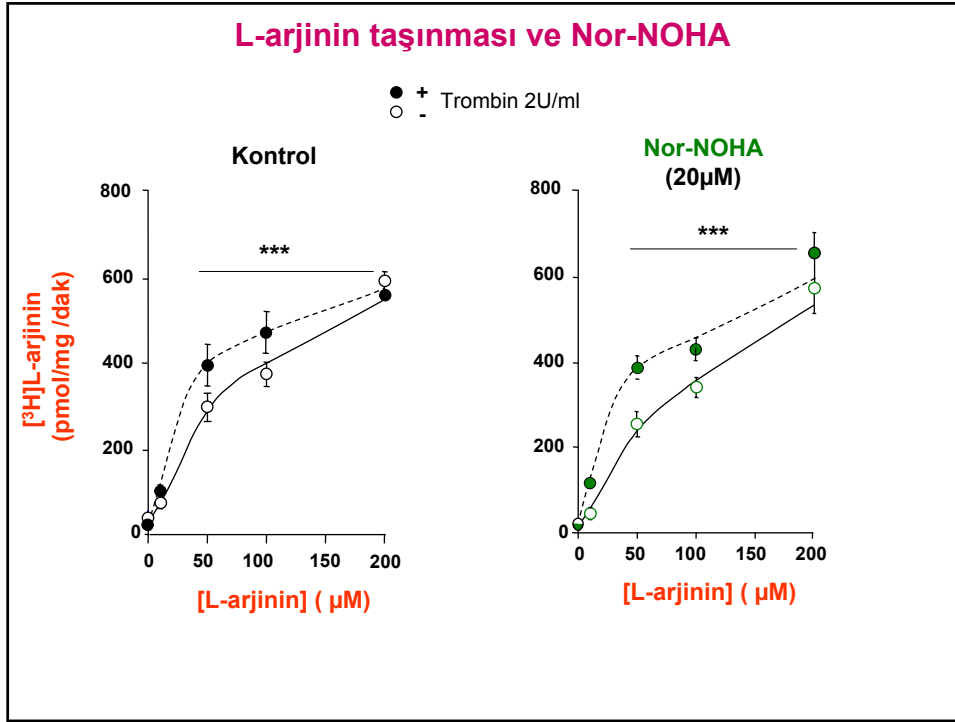
eNOS

L-arjinin taşınması

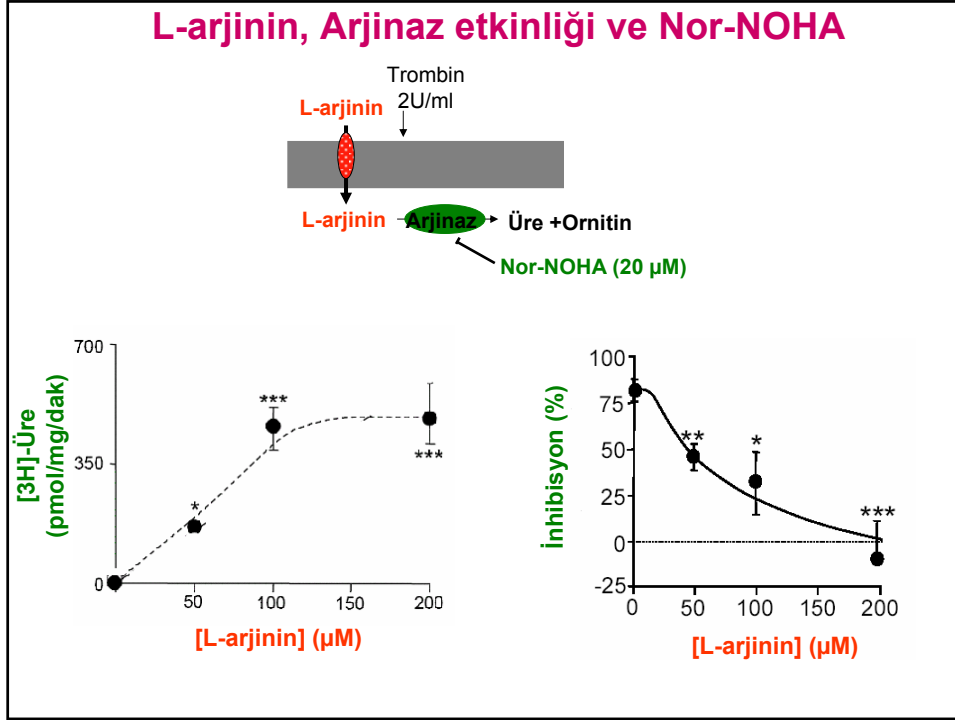
L-arjinin ve NO



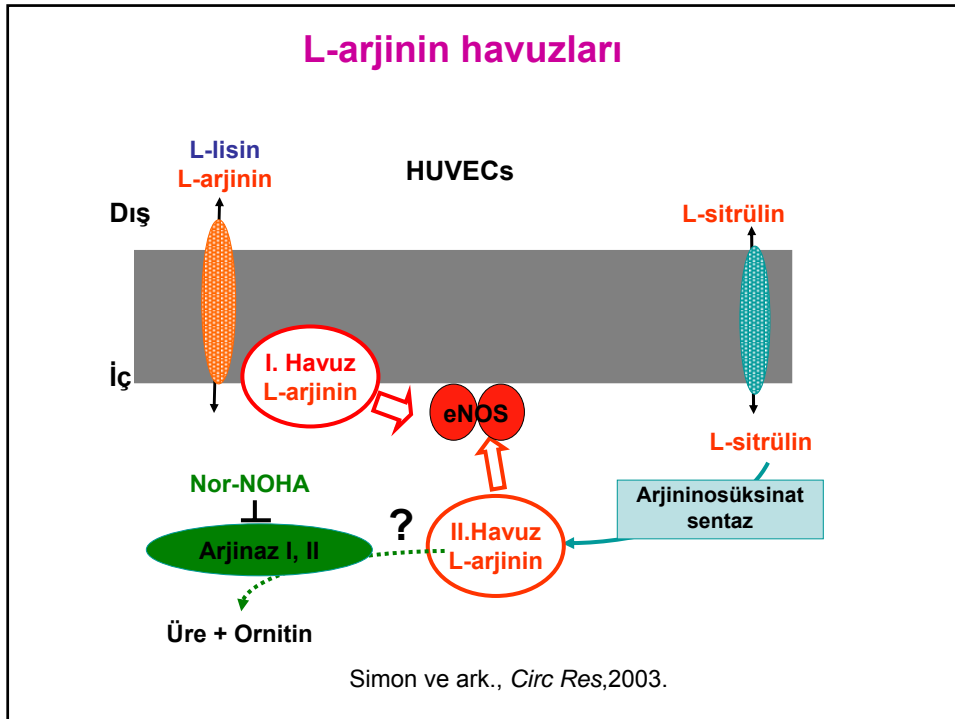




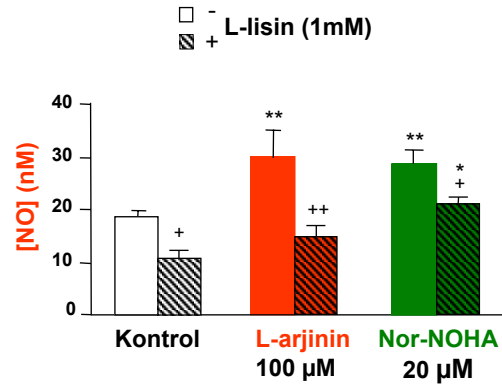
L-arjinin, Arjinaz etkinliği ve Nor-NOHA



L-arjinin havuzları



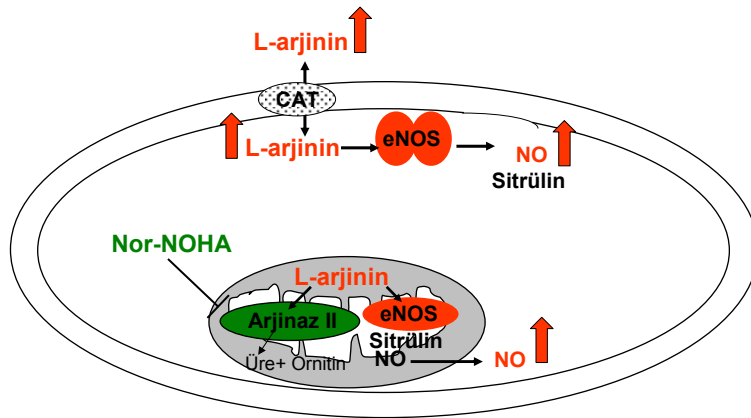
NO, L-arjinin havuzları ve Nor-NOHA



Sonuçlar

I. Bölüm

HUVECs



Topal ve ark., *JPET*, 2006

Tartışma I

Endotelial NO sentezi

L-arjinin taşınması \longrightarrow Hücre içi iki farklı L-arjinin havuzu
Mitokondriyal Arjinaz II

L-arjinin havuzları

Hücre dışı aminoasitlerle serbestçe değiştirilebilir \longrightarrow Kaveola
değiştirilemeyenlerin \longrightarrow Mitokondri

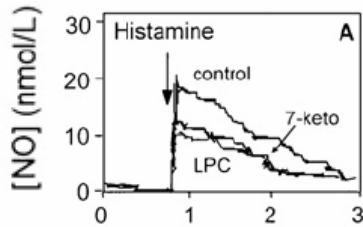
7-ketokolesterol, LFK ve NO

Okside DDL'nin major lipit bileşenlerinden

7-ketokolesterol, 150 μ M

LFK, 20 μ M

NO \downarrow



Millanvoe Van Brusell ve ark., *Biochem J*, 2004

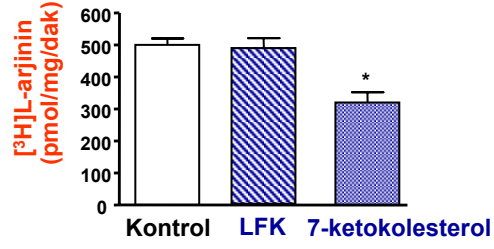
7-ketokolesterol ve LFK

\downarrow ?

L-arjinin Taşınması

Arjinaz Etkinliği

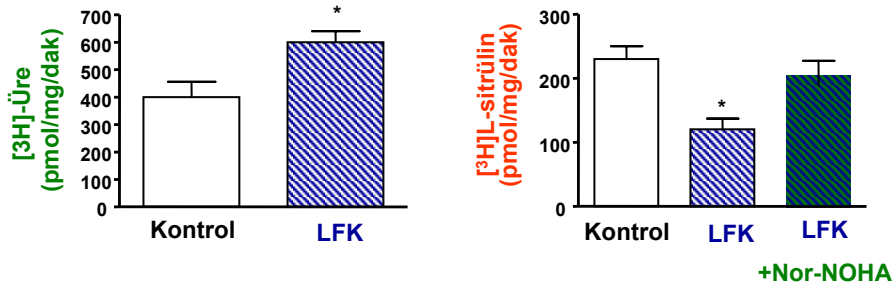
LFK, 7-ketokolesterol ve L-arjinin taşınması



LFK, 20 μ M

7-ketokolesterol, 150 μ M

LFK, Arjinaz ve eNOS

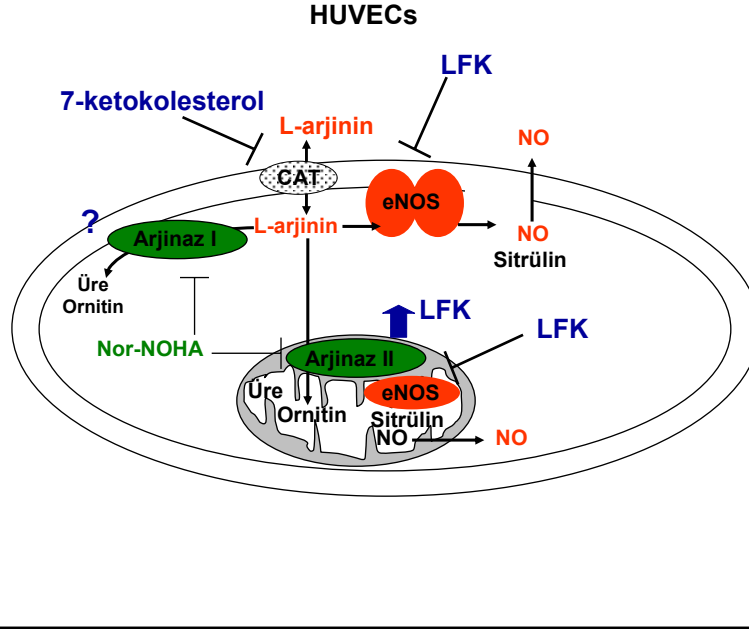


LFK, 20 μ M

Nor-NOHA, 20 μ M

II. Bölüm

Sonuçlar

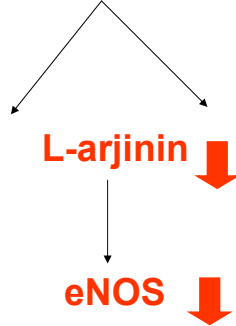


Tartışma II

NO saliverilmesinde azalma oluşturdukları bilinen aterojenik lipitler

LFK ve 7-ketokolesterol

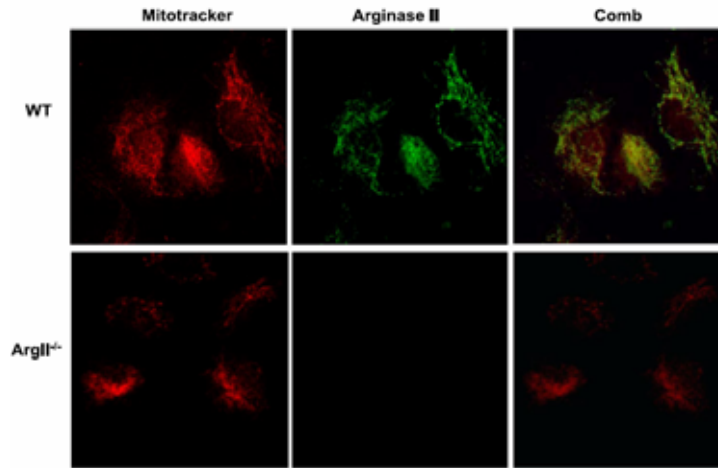
Farklı mekanizmalar



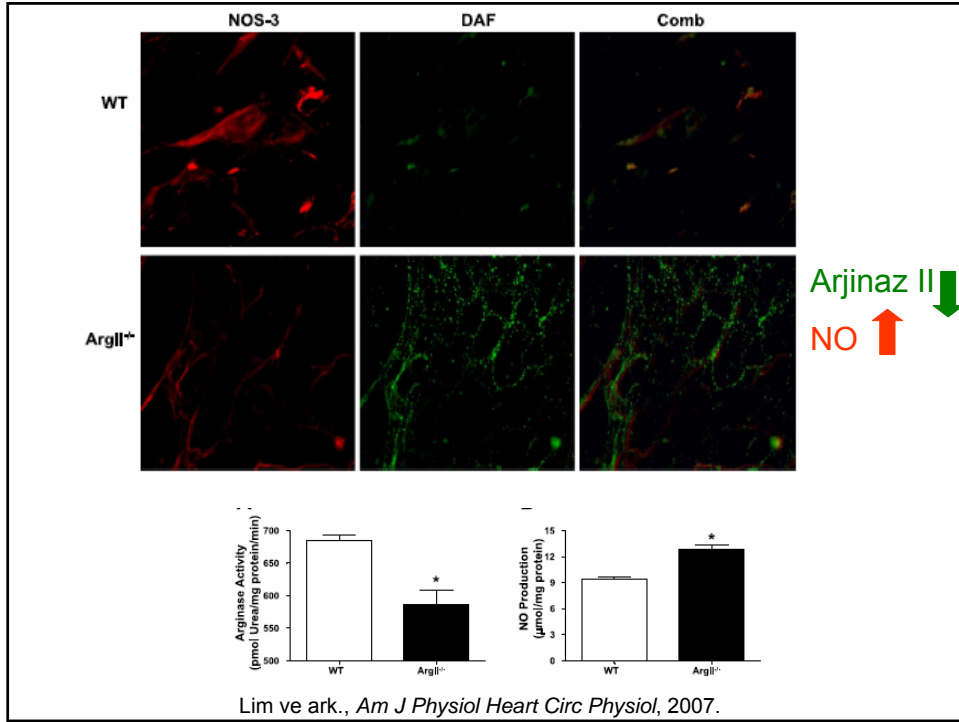
Tartışma


Kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynayan ve azalan **NO** salıverilmesi ile de karakterize edilen endotel işlevsizliğinin önlenmesinde, **hücre dışı L-arjininin** yanı sıra **arjinaz inhibitörleri** de yeni bir alternatif olabilecektir.

Yeni çalışmalar ...



Lim ve ark., *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007.





Araştırılması gerekir...

Aterosklerozun risk faktörleri


?

Hangi Arjinaz izoformu I ve/veya II ?

Hangi L-arjinin havuzu ?

Hücre içi L-arjinin miktarları ?

Arjinazların L-arjinin miktarlarına nasıl etkileri var ?



Teşekkür



CENTRE NATIONAL
DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Paris 5 Üniversitesi, Broussais Hastanesi, CNRS UMR 7131,
Cell signaling haemodynamics and early atherosclerosis,
Araştırma Laboratuvarı.

Dr. Annie BRUNET

Dr. Laurence WALCH

Dr. Jean-Luc BOUCHER

Dr. Monique DAVID-DUFILHO

Teşekkür



İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

Prof.Dr.Osman ÖZDEMİR

Prof.Dr. Gül BAKTIR

Prof.Dr. Sönmez UYDEŞ-DOĞAN

ve tüm çalışma arkadaşlarıma