

# Homosisteinin koroner mikrovasküler endotel hücre kültüründe nitrik oksit saliverilmesi üzerine olan etkisi

Dr. Ayşe EROL

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Ab.D., İzmir

## GİRİŞ VE AMAÇ

Homosistein, metionin metabolizması sırasında oluşan ve tiol içeren bir aminoasittir. Genetik veya edinilmiş pek çok faktör homosistein kan düzeylerini etkilemektedir. Homosistein metabolizmasına katılan enzimlerin (systationin  $\beta$ -sentaz veya termolabil metilentetrahidrofolat redüktaz) ya da metabolizması için gereken bir kofaktörün (folat, B<sub>6</sub> vitamini, B<sub>12</sub> vitamini) eksikliği hiperhomosisteinemiye neden olmaktadır (Kang ve ark., 1988; Stabler ve ark., 1988). Hiperhomosisteineminin kalıtsal formunda gözlenen aterosklerotik ve trombotik komplikasyonların nedeninin homosistein olduğu ilk kez McCully tarafından ortaya atılmıştır, 1976'da Wilcken tarafından vasküler hastalık risk faktörü olarak olarak tanımlanmıştır (McCully, 1969; Wilcken 1976). Epidemiyolojik çalışmalarda, genel popülasyonun %9-15'inde orta derecede hiperhomosisteinemi (plazma homosistein düzeyi >16  $\mu$ mol/L) bulunduğu ve hiperhomosisteineminin diğer risk faktörlerinin etkilerinden bağımsız bir şekilde periferik vasküler, serebrovasküler ve koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Berwanger ve ark., 1995; Brattstrom ve ark., 1984; Boushey ve ark., 1995).

Hiperhomosisteinemide aterogenezin ve/veya trombozun başlamasına neden olan olayları araştırmak üzere çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. Homosistein ile inkübe edilen çeşitli izole damar preparatlarında endotel bağımlı gevşemelerin bozulduğu görülmüştür (Lang ve ark., 1997; Emsley ve ark., 1999). İnsanlarda ve maymunlarda yapılan *in vivo* çalışmalarda endotel bağımlı arteryel gevşemelerdeki azalma ile yüksek plazma homosistein düzeyleri arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır (Lentz ve ark., 1996; Tawakol ve ark., 1997; Woo ve ark., 1997). Sığır aortu endotel hücre kültürü kullanılan başka bir çalışmada ise kültür ortamına homosistein eklenmesinin hücre ayrılmasına ve endotel kaynaklı nitrik oksit (NO) saliverilmesinde fonksiyonel bozulmalara neden olduğu belirlenmiştir (Stamler ve ark., 1993).

Homosisteinin homosistin, mikst disülfidler ve homosistein tiolaktona otooksidasyonu sırasında potent reaktif oksijen radikalleri (hidrojen peroksit ve süperoksit anyon radikali) açığa çıkararak oksidatif zarar oluşturması aterogeneze yola açan olası mekanizmalar arasında yer almaktadır (Loscalzo, 1996).

Literatürde çeşitli arterlerden elde edilen endotel ve düz kas hücresi kültürü çalışmaları bulunmasına rağmen homosisteinin koroner arter endotelinden NO saliverilmesini nasıl etkilediği ve bu etkiyle ilgili olası mekanizmalar henüz incelenmemiştir. Bu çalışmada homosisteinin koroner mikrovasküler endotel hücrelerinden NO saliverilmesi üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma protokolü Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

### Koroner Mikrovasküler Endotel Hücrelerinin İzolasyonu ve Kültüre Edilmesi

Koroner mikrovasküler endotel hücrelerinin izolasyonu için 250-270 gr ağırlığında albino sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanların hafif eter anestezisi altında toraksları açılarak kalpleri çıkarıldıktan sonra 0° C'de, kalsiyum içermeyen Krebs solüsyonuna kondu [(mM): NaCl 118, KCl 4.7, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, MgSO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25, glukoz 11]. Hızla aorttan kanüle edilen kalpler Langendorff perfüzyon sistemine asıldı ve retrograd olarak yaklaşık 10 ml/dak hızda sabit akımla ve karbojenle (%95 O<sub>2</sub>, %5 CO<sub>2</sub>) gazlandırılan 37° C'deki Krebs solüsyonuyla perfüze edildi. Daha sonra bir perfüzyon pompası aracılığıyla kalpten çıkan koroner effluentin tekrar kalbe resirküle edilmesi sağlandı ve perfüzyon ortamına % 0.04 (w/v) kollajenaz (Type II) ve 0.25 $\mu$ M Ca<sup>2+</sup> eklendi. 30 dakikalık enzimatik sindirimden sonra kalpler Langendorff setinden çıkarıldı ve steril bir petri kutusu içinde ventriküller ince bir makas yardımıyla küçük parçalara kesildi. Ventrikül

parçaları, içinde %1 (w/v) sığır serum albumini içeren resirkülasyon sıvısında 10 dakika 37° C'ta karbojenle gazlandırılarak inkübe edildi. Bu doku homojenatından ve perfüzyon sıvısından çeşitli santrifüj ve inkübasyon sonrasında elde edilen endotel hücreleri  $Ca^{2+}$  ile aktive edilmiştir. Daha sonra %10 (v/v) fetal sığır serumu, %10 (v/v) yenidoğan sığır serumu, L-glutamin (0.4 mM), benzilpenisilin (250 U/ml), streptomisin (250 µg/ml), amfoterisin B (12.5 µg/ml) ve gentamisin (50 µg/ml) ile zenginleştirilmiş, pH 7.4 olan Medium 199 ile süspan-siyon haline getirilip 75 cm<sup>2</sup>'lik hücre kültür flasklarına ekildi. Hücreler 37° C'de %5 CO<sub>2</sub> altında 1 saat inkübe edildikten sonra flask zeminine yapışmayan hücrelerin uzaklaştırılması için flasklar steril %0.9 (w/v) serum fizyolojikle 2-3 kez yıkandı ve tekrar aynı ortamda inkübe edildi. 48 saat sonra aynı kültür ortamı antibiyotik miktarı azaltılmış ortamla değiştirildi. Bu yeni ortamın antibiyotik içeriği izolasyondan hemen sonra kullanılandan farklıdır: Benzil penisilin 100 U/ml, streptomisin 100 µg/ml ve amfoterisin B 5 µg/ml (gentamisin eklenmemiştir). Büyüyen hücrelerin ortamı iki günde bir değiştirilerek üremeleri izlendi. Hücrelerin flaskın zeminini tamamen kaplaması ve kaldırım taşı manzarasını alması (yani konfluent olması) yaklaşık 7-10 gün sürmektedir. Konfluent olan hücreler tripsin-EDTA ile zemin-den ayrılarak pasajlandı. Çalışmada ikinci ve üçüncü pasajlamadan sonra konfluent hale gelen hücreler kullanıldı.

### Çalışma Protokolü

Çalışmanın yapılacağı gün flasklar steril serum fizyolojik ile 2 kez yıkandı. Flasklara kültür ortamı ile aynı konsantrasyondaki antibiyotikleri içeren ve vasata renk veren fenol kırmızısı içermeyen Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) kondu. Aşağıda belirtilen gruplara ayrılan flasklara grubuna uygun olarak homosistein ve diğer maddeler eklenerek 24 saat inkübe edildi. Ayrıca her grupta bazal salınım ve interlökin-1β (IL-1β, 10 ng/ml) ile indüklenebilir NO salınımı 24 saat sonunda değerlendirildi. Yapısal NO sentaz (NOS) ürünü olan NO salınımını değerlendirmek için kullanılan kalsiyum iyonofor (A23187, 1 µM) ise homosistein ve/veya diğer ilaçlarla 24 saat inkübasyonun tamamlanmasına 1 saat kala flasklara eklendi. Inkübasyon sonunda flasklardan alınan süpernatantlar total nitrit tayini için kullanılmıştır.

Reaktif sülfidril grubu ile oluşan süperoksit ve hidrojen peroksit gibi oksijen kaynaklı mole-

küllerin homosisteinin endotel üzerindeki sitotoksitesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu olası mekanizmayı indirekt yolla araştırmak üzere homosistein ile birlikte endotel hücreleri süperoksit dismutaz ve katalaz enzimleri ile inkübe edilmiştir.

Kültüre edilen hücreler 8 grup olarak çalışılmıştır:

1. grup: Homosistein çözücüsü (0,1 M PBS; Fosfatla tamponlanmış salin)
2. grup: Homosistein ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  M)
3. grup: N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin methyl ester (1 mM) +Homosistein çözücüsü
4. grup: N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin methyl ester (1 mM) +Homosistein ( $10^{-3}$  M)
5. grup: Süperoksit dismutaz (100 U/ml)+ Homosistein çözücüsü
6. grup: Süperoksit dismutaz (100 U/ml) + Homosistein ( $10^{-3}$  M)
7. grup: Katalaz (1000 U/ml)+Homosistein çözücüsü
8. grup: Katalaz (1000 U/ml)+Homosistein ( $10^{-3}$  M)

### NO Salıverilmesinin Ölçümü

Kültüre edilmiş koroner mikrovasküler endotel hücrelerinden bazal ve uyarılmış NO salıverilmesi, toplanan total nitrit düzeyinin Griess reaksiyonu kullanılarak ölçülmesiyle belirlenmiştir. Griess reaksiyonundan önce örneklerdeki nitrat, nitrat redüktaz enzimi aracılığıyla nitrite indirgenmiş ve örneklerdeki nitritle birlikte total nitrit düzeyi ölçülmüştür. Spektrofotometrik olarak okunan absorbansların lineer regresyonla analizi yapıp buna karşılık gelen nitrit konsantrasyonları hesaplanmıştır ve ortama salıverilen total nitrit miktarı her kültür flaskındaki Lowry yöntemiyle ölçülen protein miktarına normalize edilerek belirtilmiştir.

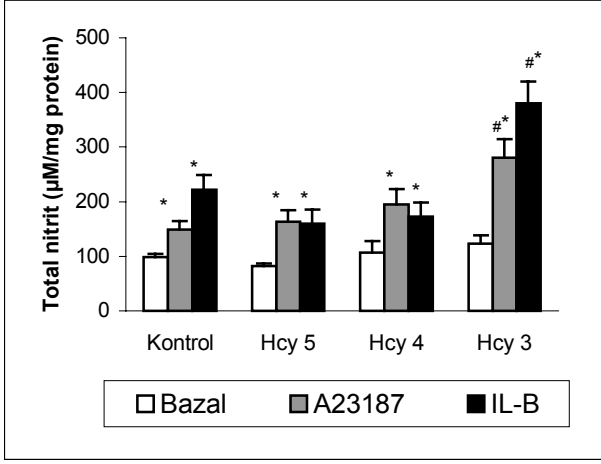
### İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmanın tüm verileri ortalama±standart hata olarak verildi. Her bir grupta n=6-10'dur. Gruplar arasındaki farklar Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi ardından post hoc Newman-Keuls testi ile araştırıldı. P<0.05 ise farklar anlamlı kabul edildi.

### BULGULAR

Kontrol grubunda bazal total nitrit düzeyleri ile karşılaştırıldığında, A23187 ve IL-1β ile uyarılan sıçan koroner mikrovasküler endotel hücrelerin-

den saliverilen total nitrit düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $P<0.05$ , Şekil 1). Homosistein çözücüsü olan 0.1 M PBS ile inkübe edilen grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında total nitrit düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

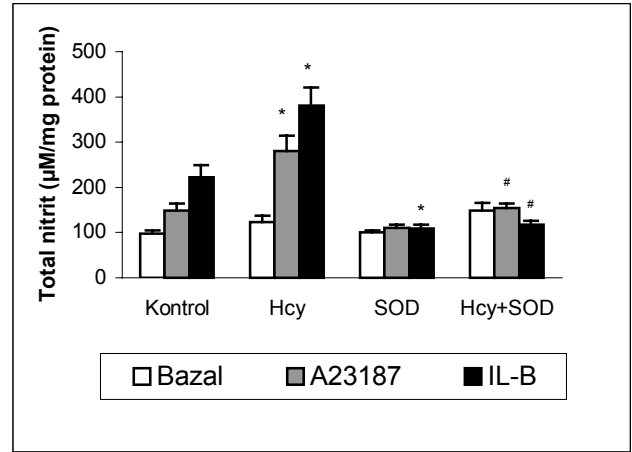


**Şekil 1.** Homosisteinin  $10^{-5}$  M (Hcy 5),  $10^{-4}$  M (Hcy 4) ve  $10^{-3}$  M (Hcy 3) konsantrasyonlarda izole sıçan koroner mikrovasküler endotel hücrelerinden bazal, kalsiyum iyonofor (A23187) ve interlökin-1 $\beta$  (IL-B) uyarısıyla saliverilen total nitrit düzeylerine etkisi. \*  $P<0.05$  bazal saliverilme ile karşılaştırıldığında; #  $P<0.05$  kontrolle karşılaştırıldığında.

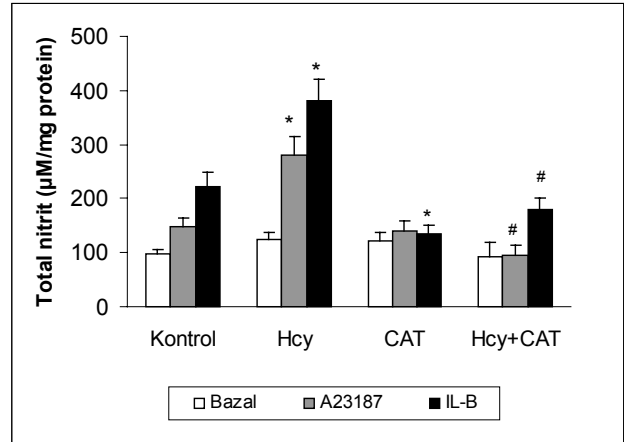
Homosistein ile 3 farklı dozda ( $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  M) 24 saat inkübasyon yapılmıştır. Her üç doz için bazal, A23187 ve IL-1 $\beta$  ile uyarılmış flasklardan elde edilen örneklerde total nitrit düzeyleri ölçülmüştür. Homosisteinin sadece  $10^{-3}$  M konsantrasyonunda A23187 ve IL-1 $\beta$  uyarısıyla saliverilen total nitrit düzeylerinde kontrole göre anlamlılık elde edilmiştir ( $P<0.05$ , Şekil 1). Bu nedenle süperoksit dismutaz, katalaz ve  $N^G$ -nitro-L-arginin methyl ester (L-NAME)'in etkileri sadece  $10^{-3}$  M homosistein konsantrasyonunda inkübe edilerek araştırılmıştır.

Homosistein ( $10^{-3}$  M) varlığında 100 U/ml süperoksit dismutaz ile 24 saat inkübe edilerek A23187 ve IL-1 $\beta$  ile uyarılmış NO saliverilmesi sonucu ölçülen total nitrit düzeylerinin tek başına homosistein ile inkübasyon sonrasında elde edilen total nitrit düzeylerine göre anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ( $P<0.05$ , Şekil 2). Aynı şekilde katalaz (1000 U/ml) ile birlikte yapılan inkübasyon sonrasında da uyarılmış salivermeye bağlı total nitrit düzeylerinde homosisteinin neden olduğu artışın anlamlı şekilde inhibe edildiği belirlenmiştir ( $P<0.05$ , Şekil 3). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında süperoksit dismutazın ve katalazın sadece IL-

1 $\beta$  ile uyarılmış salivermeyi inhibe ettiği gösterilmiştir ( $P<0.05$ , Şekil 2 ve 3).

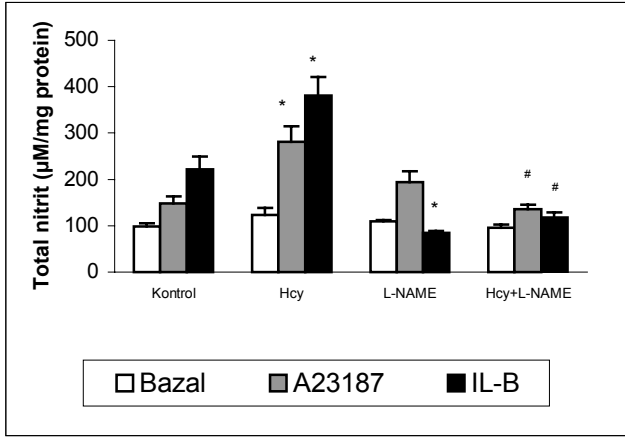


**Şekil 2.** Süperoksit dismutaz enziminin (SOD) (100U/ml) homosisteinli (Hcy) ve homosisteinsiz ortamda izole sıçan koroner mikrovasküler endotel hücrelerinden bazal, kalsiyum iyonofor (A23187) ve interlökin-1 $\beta$  (IL-B) uyarısıyla saliverilen total nitrit düzeylerine etkisi. \*  $P<0.05$  kontrol ile karşılaştırıldığında; #  $P<0.05$  homosistein ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 3.** Katalaz enziminin (CAT) (1000 U/ml) homosisteinli (Hcy) ve homosisteinsiz ortamda izole sıçan koroner mikrovasküler endotel hücrelerinden bazal, kalsiyum iyonofor (A23187) ve interlökin-1 $\beta$  (IL-B) uyarısıyla saliverilen total nitrit düzeylerine etkisi. \*  $P<0.05$  kontrol ile karşılaştırıldığında; #  $P<0.05$  homosistein ile karşılaştırıldığında.

Nonselektif NO sentaz inhibitörlerinden L-NAME (1 mM) ile homosisteinin birlikte inkübasyonu sonucu homosisteinin neden olduğu A23187 ve IL-1 $\beta$  ile uyarılmış NO saliverilmesi ile elde edilen yüksek total nitrit düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir ( $P<0.05$ , Şekil 4).



**Şekil 4.**  $N^G$ -nitro-L-arginin methyl ester (L-NAME)'in (1 mM) homosisteinli (Hcy) ve homosisteinsiz ortamda izole sıçan koroner mikrovasküler endotel hücrelerinden bazal, kalsiyum iyonofor (A23187) ve interlökin-1 $\beta$  (IL-B) uyarısıyla saliverilen total nitrit düzeylerine etkisi. \*  $p < 0.05$  kontrol ile karşılaştırıldığında; #  $p < 0.05$  homosistein ile karşılaştırıldığında.

Kontrol grubunda A23187 ve IL-1 $\beta$  ile uyarılan NO saliverilmesi sonucu oluşan total nitrit düzeyleri ile karşılaştırıldığında L-NAME'in sadece IL-1 $\beta$  ile meydana gelen uyarılmış saliverilmeyi inhibe ettiği belirlenmiştir ( $P < 0.05$ , Şekil 4).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma homosisteinin koroner mikrovasküler endotel hücre kültüründe bazal NO yapımını etkilemediği, A23187 veya IL-1 $\beta$  ile uyarılmış NO saliverilmesini artırdığını göstermektedir.

Homosisteinin hem A23187 hem de IL-1 $\beta$  ile uyarılmış NO saliverilmesini artırdığına dair sonuçlarımız literatür ile çelişkilidir. Literatürde yer alan çalışmaların çoğunda homosisteinin yapısal NO sentaz (cNOS) enzim aktivitesini ya da enzim ekspresyonunu değiştirmeden NO etkinliğini azalttığı bildirilmektedir (Upchurch ve ark., 1997a; Chow ve ark., 1999; Zhang ve ark., 2000). Çalışmaların protokolleri karşılaştırıldığında kullanılan endotel hücrelerinin kökeni, homosistein ile inkübasyonun süresi, kullanılan homosistein konsantrasyonu gibi çeşitli farklılıklar bulunmaktadır. Homosistein ile 15 dk inkübasyona maruz bırakılan sıçır aort endotel hücrelerinden saliverilen NO ile reaksiyona giren homosisteinin, NO'nun bazı özelliklerini (vazodilatör ve antitrombosit özellikleri gibi) taşıyan stabil bir S-nitrosotiol olan S-nitroso-homosistein oluşturduğu gösterilmiştir. Homosisteinin S-nitrozasyonu sülfidril bağımlı hidrojen peroksid oluşumunu inhibe ederek

aminoasidin patojenitesini azaltmaktadır. Ancak aynı çalışmada hücrelerin 6 saat gibi daha uzun süre homosistein ile inkübasyon sonrasında endotelin trombosit agregasyonu inhibisyonu kapasitesinin azaldığı gözlenmiştir (Stamler ve ark., 1993). Çalışmamızda A23187 ile uyarılmış NO saliverilmesinin homosistein ile inkübasyonda kontrole göre fazla bulunması homosisteinin etkisini detoksifiye etmek üzere endotelde NO yapımının artması ile açıklanabilir. 5 mM homosistein ile inkübasyon yapılan bir çalışmada inkübe edilen sıçır aort endotel hücrelerinde A23187 uyarılması ile kontrole göre anlamlı olarak daha fazla S-nitroso-homosistein oluştuğu ve böylece NO miktarının arttığı gösterilmiştir (Upchurch ve ark., 1997b).

IKL-1 $\beta$  ile uyarılmış NO saliverilmesinde homosisteinle inkübasyon sonucu görülen anlamlı artış hücrelerde meydana gelen hasar sonucu iNOS aktivitesindeki artışa bağlanabilir. Çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar yüksek homosistein düzeylerinin endotel hasarı ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Harker ve ark., 1983; Dudman ve ark., 1991). Nonselektif kompetitif NOS inhibitörü L-NAME ile birlikte yapılan inkübasyon sonrasında bu artışların anlamlı olarak azalmıştır.

Homosistein plazmada hızla otooksidasyona uğrayarak homosistin, mikst disülfidler ve homosistein tiolaktin oluşturduğu bilinmektedir (Andersson ve ark., 1995). Homosisteinin otooksidasyonu sırasında süperoksid ve hidrojen peroksid gibi potent reaktif oksijen molekülleri oluşmaktadır. Özellikle hidrojen peroksidin hiperhomosisteinemiye bağlı vasküler toksisitede rol oynadığı düşünülmektedir. Hidroksil radikalının süperoksid anyon radikali-ne bağlı oluşumunun endotelial plazma membranı ve içindeki lipoprotein partikülleri düzeyinde bir etkiyle lipid peroksidasyonunu başlattığı gösterilmiştir (Loscalzo, 1996). Çalışmada A23187 veya IL-1 $\beta$  uyarılması ile oluşan ve homosisteinin tek başına inkübasyonunda artan NO saliverilmesinin süperoksid dismutaz veya katalaz ile inhibe edildiği bulunmuştur. Bu sonuç olası mekanizmalar arasında homosisteinin otooksidasyonu sonucu ortaya çıkan reaktif oksijen moleküllerinin de yer aldığı şeklindeki hipotezi desteklemektedir. Süperoksid radikali NO'yi inaktive ederek onun etkinliğini azaltmaktadır. Yapılan *in vitro* damar çalışmalarında süperoksidin ekstraselüler aralıkta NO'yi yıkarak relaksasyonu inhibe ettiği bildirilmiştir (Grylewski ve ark., 1986; Rubanyi ve ark., 1986). Bu etki süperoksid dismutaz ile reversibl olarak inhibe edilmektedir. Hidrojen peroksidin

NO yapımını stimüle ettiği bilinmektedir. Ancak sonuçta NO yapımının azalmasına neden olan irreversible endotel hasarına yol açmaktadır. Hidrojen peroksidin bu etkisi katalaz ile önlenmektedir (Schimizou ve ark., 1994).

Sonuç olarak, bu çalışma tiol grubu içeren reaktif bir aminoasit olan homosisteinin koroner mikrovasküler endotel hücre kültüründe bazal NO yapımını etkilemediği, A23187 veya IL-1 $\beta$  uyarılmış NO salınmasını artırdığını göstermektedir. Bu bulgular ile endotel hücrelerinin potansiyel toksik bir tiol olan homosisteinin neden olduğu hasarı sınırlamak üzere endojen NO yapımını artırdığı düşünülebilir. Ancak varılan sonucun daha iyi desteklenebilmesi için yapısal ve indüklenebilir NO sentaz enzimlerinin ekspresyonlarının değerlendirilmesi ile ilgili daha ileri tekniklerin kullanıldığı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

#### **Destek**

*“Novartis Farmakoloji Dalı Araştırma Destekleri” fonu tarafından desteklenmiştir.*

#### **KAYNAKLAR**

- Andersson A, Lindgren A, Hultberg B. Effect of thiol oxidation and thiol export from erythrocytes on determination of redox status of homocysteine and other thiols in plasma from healthy subjects and patients with cerebral infarction. *Clin Chem* 1995, 41:361-366.
- Berwanger CL, Jeremy JY, Stansby GD. Homocysteine and vascular disease. *Br J Surg* 1995, 82: 726-731.
- Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *J Am Med Assoc* 1995, 274: 1049-1057.
- Brattstrom LE, Hardebo JE, Hultberg BL. Moderate hyperhomocysteinemia: a possible risk factor for arteriosclerotic cerebrovascular disease. *Stroke* 1984, 15:1012-1016.
- Chow K, Cheung F, Lao TTH, Karmin O. Effect of homocysteine on the production of nitric oxide in endothelial cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999, 26:817-818.
- Dudman NP, Hicks C, Wang J, Wilcken DE. Human arterial endothelial cell detachment in vitro: its promotion by homocysteine and cysteine. *Atherosclerosis* 1991;91 (1-2):77-83.
- Emsley AM, Jeremy JY, Gomes GN, Angelini GD, Plane F. Investigation of inhibitory effects of homocysteine and copper on nitric oxide-mediated relaxation of rat isolated aorta. *Br J Pharmacol* 1999, 126:1034-1040.
- Gryglewski RJ, Palmer RMJ, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelial-derived relaxing factor. *Nature* 1986, 320:454-456.
- Harker LA; Harlan JM, Ross R. Effects of sulfipyrazone on homocysteine-induced endothelial injury and arteriosclerosis in baboons. *Circ Res* 1983;53:731-9.
- Joly GA, Schini VB, Vanhoutte PM. Balloon injury and interleukin-1 $\beta$  induce nitric oxide synthase activity in rat carotid arteries. *Circ Res* 1992, 71:331-338
- Kang SS, Zhou J, Wong PWK, Kowalyszyn J, Strokosch G. Intermediate homocysteinemia: a termolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1988, 43: 414-421.
- Lang D, Hussain SA, Lewis MJ. Homocysteine inhibits endothelium-dependent relaxation in isolated aortic rings. *Br J Pharmacol* 1997, 120:145P.
- Lentz SR, Sobey CG, Piegors DJ, Bhopatkar MY, Faraci FM, Malinow MR, Hesitad DD. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocysteinemia. *J Clin Invest* 1996, 98: 24-29.
- Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocysteinemia. *J Clin Invest* 1996;98:5-7.
- McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969, 56: 111-128.
- Rubanyi GM, Vanhouette PM. Superoxide anions and hyperoxia inactive endothelial-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986, 250:H822-H827.
- Schimizu S, Saitoh Y, Yamamoto T, Momose K. Stimulation by hydrogen-peroxide of L-arginine metabolism to L-citrulline coupled with nitric oxide synthesis in cultured endothelial cells. *Res Commun Chem Path Pharmacol* 1994, 84:315-329.
- Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J. Elevations of total homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest* 1988, 81: 466-474.
- Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, Loscalzo J. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest*. 1993, 91: 308-318
- Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT, Creager MA. Hyperhomocysteinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *Circulation* 1997, 95: 1119-1121.
- Upchurch GR, Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF, Loscalzo J. Homocysteine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1997a; 272:17012-17.
- Upchurch GRJ, Welch GN, Fabian AJ, Pigazzi A, Keaney JF, Loscalzo J. Stimulation of endothelial nitric oxide production by homocyst(e)ine. *Atherosclerosis* 1997b; 132: 177-185.
- Wilcken Del, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest* 1976;57:1079-82.
- Woo KS, Chook P, Lolin YI, Cheung ASP, Chan LT, Sun YY, Sanderson JE, Metrewell C, Celermajer DS. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 1997, 96: 2542-2544.
- Zhang X, Li H, Jin H, Ebin Z, Brodsky S, Goligorsky MS. Effects of homocysteine on endothelial nitric oxide production. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000, 279:F671-F678.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Ayşe (SÜRÜCÜ) EROL  
**Doğum tarihi** : 10.08.1969  
**Doğum yeri** : İstanbul

### Eğitim Durumu

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, 1993.  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Ab. D., İzmir, Uzmanlık eğitimi, 1999.

### Yurtdışı Araştırma

Kolon kanseri hücre kültürlerinde basınç-adezyon ilişkisinin araştırılması (Wayne State University, School of Medicine, Dept. of Surgery, Detroit, 05.02.2002-07.01.2003)

### Yayın Listesi

#### I. Araştırma Projeleri

1. Can C., Erol A., Çınar M. G. Siklosporin ve FK 506'nın damar endotel hücre fonksiyonları ve serum homosistein düzeylerine etkileri (Ege Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı Projesi, 2001-TIP-004) (devam ediyor).
2. Çınar M. G., Can C., Erol A. Troglitazonun koroner mikrovasküler endotel hücre kültüründe nitrik oksit salıverilmesi üzerine etkisi (DPT tarafından desteklenmektedir, Proje No. 2002K120220, aynı zamanda bu proje TÜRKİYE DİYABET VAKFI-2001 tarafından desteklenmektedir) (devam ediyor).

#### II. Araştırma Makaleleri

##### Uluslararası Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Erol A, Koşay S. Effects of aminoguanidine administration on vascular hyporeactivity in thoracic aorta from endotoxaemic rats. *European Journal of Pharmacology*, 408: 175-181, 2000.
2. Ülker S, Önal A, Bölükbaşı F, Sürücü A, Alkanat M, Koşay S, Evinç A. Effect of nabumetone treatment on vascular responses of thoracic aorta in rat

experimental arthritis. *Pharmacology*, 60 (1): 41-46, 2000.

##### Ulusal Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Erol A, Koşay S. Endotoksik şok sıçan modelinde in vivo uygulanan N<sup>G</sup>-Nitro-L-arginin Metil Ester'in torasik aort yanıtları üzerine etkisi. *Adli Bilimler Dergisi*, 2 (3): 17-23, 2003.

### III. Bildiriler

#### Ulusal Kongrelerde Sunulan Bildiriler

1. Önal A, Bölükbaşı F, Ülker S, Sürücü A, Alkanat MB, Koşay S, Evinç A. Sıçan artrit modelinde nabumetonun izole aort yanıtlarına etkisi. (XIII. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 4-8 Kasım 1996, Tekirova-ANTALYA)
2. Sürücü A, Çınar GM, Can C, Ülker S, Gök Ş, Çoker C, Soykan N, Koşay S, Evinç A. Adjuvan artritle sıçanlarda E vitamini tedavisinin izole aort yanıtlarına etkisi. (XIII. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 4-8 Kasım 1996, Tekirova-ANTALYA)
3. Bölükbaşı F, Sürücü A, Ülker S, Dökmeci İ, Koşay S, Evinç A. Sıçan artrit modelinde kalsiyumun izole aort kasılma yanıtındaki rolü. (XIII. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 4-8 Kasım 1996, Tekirova-ANTALYA)
4. Akgür SA, Sürücü A, Soykan N. Bronkoaktif ajanların solunum yolundaki etkilerinde epitelin ve nitrik oksidin rolü. (XIII. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 4-8 Kasım 1996, Tekirova-ANTALYA)
5. Sürücü A, Ülker S, Evinç A, Koşay S. Endotoksik şokta in vivo uygulanan L-NAME'in izole torasik aort yanıtlarına etkisi. (XIV. Ulusal Farmakoloji Kongresi 2-7 Kasım 1997, Tekirova-ANTALYA )
6. Erol A, Koşay S. Endotoksemik sıçanlarda gözlenen vasküler yanıt azlığı üzerine aminoguanidin'in etkisi. (XVI. Ulusal Farmakoloji Kongresi 1-5 Ekim 2001, Kuşadası, İzmir)
7. T Şen , E Kaptanoğlu, A Erol, P Türkoğan, A Uysal, Ş Koşay, AR Kandiloğlu, İ Ulman A Avanoğlu A Gökdemir. Deneysel dereceli omurilik travmasında nöropatik mesane modeli. (XIX. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi, 2001, Belek, Antalya)