

# Nitrik Oksidin Kalp İşlevleri Üzerine Etkisi

## Effect of Nitric Oxide on Cardiac Functions: Review

Gülnehal ÖZCAN,<sup>a</sup>  
Emire Ayşe ŞAHİN,<sup>b</sup>  
Emine DEMİREL YILMAZ<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu,  
Türkiye Farmakovijilans Merkezi ve  
Kontrol Tabi Maddeler Dairesi,  
<sup>b</sup>Tıbbi Farmakoloji AD,  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Ankara

Geliş Tarihi/Received: 09.09.2016  
Kabul Tarihi/Accepted: 01.12.2016

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Gülnehal ÖZCAN  
Türkiye Farmakovijilans Merkezi ve  
Kontrol Tabi Maddeler Dairesi  
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu,  
Ankara,  
TÜRKİYE/TURKEY  
glnhl.ozcan@gmail.com

**ÖZET** Nitrik oksit (NO), doğada varlığı eskiden beri bilinen serbest radikal niteliğinde bir gazdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, NO'nun organizmada birçok fizyolojik ve patolojik süreçte yer aldığını, ortaya çıkarmıştır. NO; nöronal iletimde, immün yanıtta, gastrointestinal mukoza bütünlüğünün korunmasında, solunum yolları siliyer aktivitesinde, renal glomerüler ve kavernoöz kan akımının düzenlenmesinde aktif rol oynamaktadır. NO'nun etkilerinin en fazla öne çıktığı sistem ise kardiyovasküler sistemdir. NO; kalp kasılması, atım hızı ve damar tonusunun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Hipertansiyon, kalp yetersizliği, iskemik kalp hastalığı, koroner arter hastalığı ve aritmiler gibi kardiyovasküler hastalıklar NO yanıtında bozulmayla ilişkilendirilmektedir. NO uyarısı üzerinden etki gösteren NO vericileri ve fosfodiesteraz-5 inhibitörleri klinikte; anjina pectoris, yenidoğanların hipoksik solunum yetmezliği, erektil disfonksiyon ve pulmoner hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır. NO uyarı yolu üzerinden etki gösteren yeni ilaçların keşfi için yoğun çalışmalar sürmektedir. Ancak, NO'nun kalp üzerindeki etkileri deneylerde kullanılan canlı türü, preparat (in vivo, tam kalp, kalbin farklı bölgeleri, doku, hücre), hedef dokudaki redoks dengesi ve NO derişimine bağlı olarak farklılık sergilemekte ve ilaç keşfi çalışmalarını güçlendirmektedir. NO yanıtındaki bu farklılığa neden olan moleküler mekanizmaların bütün detayları ile aydınlatılmasının hem kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde NO'nun rolünün anlaşılmasına hem de NO sistemi üzerinden etki gösteren daha etkili ilaçların geliştirilmesine önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada, NO'nun kalpte fizyolojik ve patolojik süreçlerdeki rolü moleküler mekanizmalarıyla birlikte ele alınmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Nitrik oksit; kardiyovasküler sistem; kalp ve damar hastalıkları; ilaç tedavisi

**ABSTRACT** Nitric oxide (NO) is a free-radical gas known to exist in the environment for many years. Recent studies uncovered that NO is an important molecule involved in many physiological and pathological processes in the organism. NO take active role in regulation of neurotransmission, immune response, gastric mucosal integrity, ciliary activity in respiratory tract, blood flow to renal glomeruli and cavernous system. However, cardiovascular system is the system where the effect of NO is most prominent. NO plays important role in regulation of cardiac contraction, heart rate and vascular tone. Dysregulation of NO response is associated with cardiovascular disorders including hypertension, heart failure, ischemic heart disease, coronary artery disorder and arrhythmia. NO donors and phosphodiesterase-5 inhibitors that act via NO signaling are in clinical use for treatment of angina pectoris, hypoxic respiratory failure of newborn, erectile dysfunction and pulmonary artery hypertension. Research on discovery of new drugs that act via NO signaling continues intensively. However, cardiac effects of NO change based on the species used in the experiments, type of the experimental preparation (in-vivo, whole-heart, region of the heart, tissue, cell), redox balance and NO concentration at the target tissue; and complicate the drug discovery studies. Uncovering molecular mechanisms that lead to these differences with full detail is thought to enlighten the role of NO in cardiovascular diseases and contribute to discovery of more effective drugs that act via NO signaling pathway. In this review, we summarised the role of NO in cardiac physiology and pathology with their underlying molecular mechanisms.

**Key Words:** Nitric oxide; cardiovascular system; cardiovascular diseases; drug therapy

doi: 10.5336/cardiosci.2016-53254

Copyright © 2016 by Türkiye Klinikleri

**Türkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci 2016;28(3):99-117**

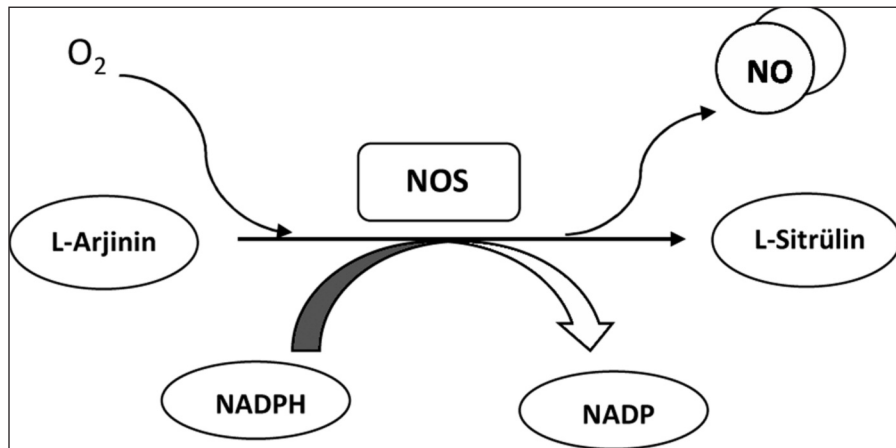
**N**itrik oksit (NO), 1772 yılında İngiliz kimyacı Joseph Priestley tarafından keşfedilen, bir atom azot ve bir atom oksijen içeren serbest radikal niteliğinde bir gazdır.<sup>1,2</sup> Renksiz ve kokusuz bir gaz olan NO, atmosferin üst tabakalarında, taşıt egzozlarında ve asit yağmurlarında bulunmaktadır.<sup>2,3</sup> NO'nun biyolojik olaylardaki etkinliği son zamanlarda anlaşılmıştır. Organizmanın fizyolojik ve patolojik süreçlerinde rol alan bu önemli molekülün keşfine ışık tutan çalışmalar, tarihsel sıralama bakımından oldukça ilgi çekici özellikler sergilemektedir.

NO ile ilgili ilk bulgular; 1849 yılında sodyum nitroprussidin kimyasal yapısının ortaya konması ve 1928 yılında bu molekülün vazodilatör olarak klinikte kullanılmaya başlaması olarak kabul edilebilir. Daha sonra 1962 yılında Jelliffe, tavşan aortasında asetilkolin [acetylcholine (ACh)]'in temel etkisinin, bilinenin aksine kasılma değil gevşeme yanıtı olduğunu ve bu etkiyi, ACh'nin kasılma yanıtının ortaya çıkardığı derişimden 100 kat düşük derişimde yaptığını gözlemlemiştir.<sup>4</sup> 1979 yılında Gruetter, sığır koroner arterinde nitroprussid'in NO üzerinden etki gösterdiğini ve NO'nun da guanilat siklazı [guanylyl-cyclase (GC)] aktive ederek siklik guanozin monofosfat [cyclic guanosine monophosphate (cGMP)] üretimi yoluyla damar düz kasında gevşemeye yol açtığını ortaya koymuştur.<sup>5</sup> NO ile ilgili çalışmaların dönüm noktası, 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki'nin tavşan torasik aortası üzerinde ACh'nin etkilerini gözlediği çalış-

madır. Çalışmada, ACh'nin in vivo ortamda damarlar üzerinde gösterdiği gevşetici etki in vitro koşullarda her zaman tekrarlanamamıştır. Ancak dikkatli gözlemlerle, damar yanıtlarındaki değişkenliğin damar endoteli ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. İn vitro, endoteli korunmuş damarlarda ACh ile gevşeme yanıtı alınırken, endoteli sıyrılmış preparatlarda gevşeme gözlenememiştir. Bu veri, ACh ile damar gevşemesi için sağlam endotel gerektiğini göstermiştir.<sup>6</sup> ACh uyarısıyla damar endotelinden salıverilen bir maddenin varlığı öne sürülmüş ve bu madde endotel kaynaklı gevşetici faktör [endotelium-derived relaxing factor (EDRF)] olarak adlandırılmıştır. Aday molekülün kararsız serbest radikal olabileceği düşünülmüştür.<sup>7</sup> 1987 yılında Ignarro ve Moncada tarafından, EDRF'nin NO olduğu ortaya konulmuştur.<sup>8,9</sup> 1992'de yılın molekülü seçilen NO, 1998 yılında Furchgott, Ignarro ve Murad'a Nobel Tıp Ödülü kazandırmıştır.<sup>10,11</sup> Günümüzde NO'nun, vücudumuzdaki bütün organ sistemlerinin fizyolojik ve patolojik süreçlerinde etkin bir işlevi olduğu bilinmektedir.<sup>12</sup>

## NİTRİK OKSİT SENTEZİ VE DÖNÜŞÜMÜ

Organizmada NO, NO sentaz (NOS) enzimi tarafından L-arjininden sentezlenir (Şekil 1). Bu tepkimede tetrahidrobiopterin (BH4), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve Hem (demir protoporfirin 9) kofaktör olarak yer alır. L-arjininden, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve oksijenin katkısıyla



ŞEKİL 1: Nitrik oksit sentez reaksiyonu.

NOS: Nitrik oksit sentaz; NO: Nitrik oksit; NADPH: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, NADP: Nitotinamid adenin dinükleotid fosfat.

L-sitrülün ve nikotinamid adenin dinük leotid fosfat (NADP) oluşur iken, bu dönüşüm sırasında NO açığa çıkar.<sup>13</sup>

NOS, Hem içeren bir proteindir ve dimerik formda bulunmaktadır. Bir NOS monomeri, yapısal olarak amino-terminalinde oksijenaz ve karboksiterminalinde redüktaz özellikte iki parçaya sahiptir. Oksijenaz kısmı Hem, L-arjinin ve BH<sub>4</sub>; redüktaz kısmı ise FAD, FMN ve NADPH için bağlanma bölgeleri içermektedir. Bu iki parça kalmodulin tanıma bölgesiyle birbirine bağlanmaktadır. L-arjinin, Hem ve BH<sub>4</sub>; iki NOS monomerinin dimerleşmesini başlatan moleküller olup; aktif NOS dimerinin ayrılmasını da engellemektedirler.<sup>13</sup>

NOS'nin üç izoformu tanımlanmıştır: Bunlar; endotelde bulunan NOS (eNOS, NOS3), nöronda bulunan NOS (nNOS, NOS1) ve inflamatuvar uyarı ile uyarılan NOS (iNOS, NOS2)'dir. Bu izoformlar farklı genlerin ürünleridir. NOS'nin her üç izoformu da hem sitozolde hem de hücre zarına bağlı olarak bulunabilmektedir. Ayrıca, her üç izoformda da iki NOS monomeri iki kalmoduline bağlanarak tetramerik bir yapı oluşturabilmektedir. eNOS ve nNOS proteinleri uyarıdan bağımsız olarak bazal koşullarda hücrede bulunmaları nedeni ile yapısal NOS (constitutive NOS: cNOS) olarak tanımlanmaktadır. Hücre içi kalsiyum düzeyindeki artış, eNOS ve nNOS'nin kalmoduline bağlanmasını ve böylece aktive olmasını sağlamaktadır. cNOS'den farklı olarak iNOS proteini (istisnaları olmakla birlikte) bazal koşullarda hücrede bulunmaz. İnflamatuvar uyarı hücrede iNOS proteininin

sentezlenmesini uyarmaktadır. iNOS, dinlenim durumundaki oldukça düşük hücre içi serbest kalsiyum derişiminde bile aktif durumdadır ve NO sentezi yapabilmektedir. NOS izoformlarının bulunduğu hücre ve dokular farklılıklar göstermektedir (Tablo 1). Temel olarak nNOS, santral sinir sistemi ve periferik nöronlarda bulunmasına karşın başka hücrelerde de (örneğin; kardiyak miyositler) varlığı ortaya konmuştur. eNOS çoğunlukla endotel, kalp kası ve trombositlerde bulunmaktadır. iNOS ise daha çok immün hücrelerde bulunmasına rağmen; hepatosit, endotel, epitel, mezangiyum ve damar düz kası hücrelerinde de ifade edilebilmektedir. Yapısal NOS tarafından saniyeler içinde sentezlenen NO, ancak femtomolar-pikomolar düzeylerde seyrederek iken; iNOS tarafından sentezlenen NO, hem nanomolar-mikromolar derişimlere ulaşabilmekte hem de bu sentez günlerce sürebilmektedir. iNOS'nin mikroorganizmalar ve tümör hücrelerine karşı savunmada rol aldığı bilinmekle birlikte, kronik inflamasyon gibi bazı patolojik süreçlerin oluşumuna katkıda bulunduğu dair bulgular da elde edilmiştir.<sup>13-16</sup>

NOS enzimi ile NO sentezinin yanı sıra, daha az miktarda olmak üzere diyetle alınan nitratın, nitrat redüktaz enzimi ile nitrite indirgenmesi yoluyla da vücutta NO üretimi gerçekleştirilmektedir. Oluşan nitritten kendiliğinden (enzime ihtiyaç duymadan) NO oluşabilmektedir. NO'nun bu oluşumu iskemik dokularda pH asiditeye kaydığında meydana gelebilmektedir. NOS enzimi olmaksızın üretildiği için, NOS inhibitörlerinin bu oluşum

**TABLO 1:** Nitrik oksit sentaz izoformları ve özellikleri.

| NOS izoformu                          | nNOS (NOS1)                           | eNOS (NOS3)                           | iNOS (NOS2)  |
|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|
| <b>Bulunduğu hücreler</b>             | Nöron, kalp kası                      | Endotel, kalp kası, trombosit         | Makrofaj, nötrofil, fibroblast, endotel, kalp kası, damar düz kası |
| <b>İşlev</b>                          | Fizyolojik düzenleme                  | Fizyolojik düzenleme                  | İmmün yanıt  |
| <b>Hedef doku NO derişimi</b>         | Pikomolar-femtomolar                  | Pikomolar-femtomolar                  | Nanomolar-mikromolar   |
| <b>NO saliverilme süresi</b>          | Kısa süreli saliverilme               | Kısa süreli saliverilme               | Uzun süreli saliverilme  |
| <b>Kalsiyum iyonu ile aktivasyonu</b> | Hücre içi serbest kalsiyum artışı ile | Hücre içi serbest kalsiyum artışı ile | Dinlenim durumu hücre içi serbest kalsiyumu ile                    |
| <b>İndüksiyonu</b>                    | Sinir büyüme faktörü (NGF)            | Düzenli hareket                       | LPS, sitokinler, okside LDL  |

NOS: Nitrik oksit sentaz; NO: Nitrik oksit; LPS: Lipopolisakarit; LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein.

üzerine etkisi yoktur. Özellikle iskemiye uğramış kalpte gözlenen bu NO üretimi, iskemiden nekroza kadar giden süreçte etkin rol oynayan bir NO kaynağı olabilmektedir.<sup>17,18</sup>

NO, üretiminin ardından saniyeler içinde etkisizleştirilmektedir. Biyolojik yarı ömrü yaklaşık 6-50 saniye arasında değişkenlik gösterebilmektedir.<sup>19</sup> Bu süre dokuda yaklaşık 3-6 saniye, kanda ise 1-2 saniye olarak öngörülmektedir.<sup>20</sup> NO kanda, nitrit ve nitrate dönüşmektedir. Nitratın büyük kısmı idrarla atılmakta, ancak kandan gelen belli bir kısmı oral kavite bakterileri tarafından nitrite dönüştürülmektedir. Mideye ulaşan nitritin bir kısmı nitrojen gazına dönüşerek ortadan kaybolur iken; kandan ve mideden barsağa gelen nitrat, nitrit üzerinden kısmen amonyağa indirgenir, vücuda geri emilir ve üreye dönüştürülerek atılır. Böylece vücuttan uzaklaştırılmış olur.<sup>21</sup> Öte yandan, süperoksit radikalini ( $O_2^-$ ) yüksek derişimlerde bulunduğu oksidatif stres durumunda, NO'nun  $O_2^-$  ile etkileşimi sonucu güçlü radikallerin sentezi yoluyla da NO'nun ortadan kaldırılması söz konusudur. NO'nun biyoetkinliğini azaltan bu yol "nitrozatif stres" olarak adlandırılmaktadır.<sup>22</sup>

## HÜCREDE NİTRİK OKSİT İLE UYARI İLETİMİ

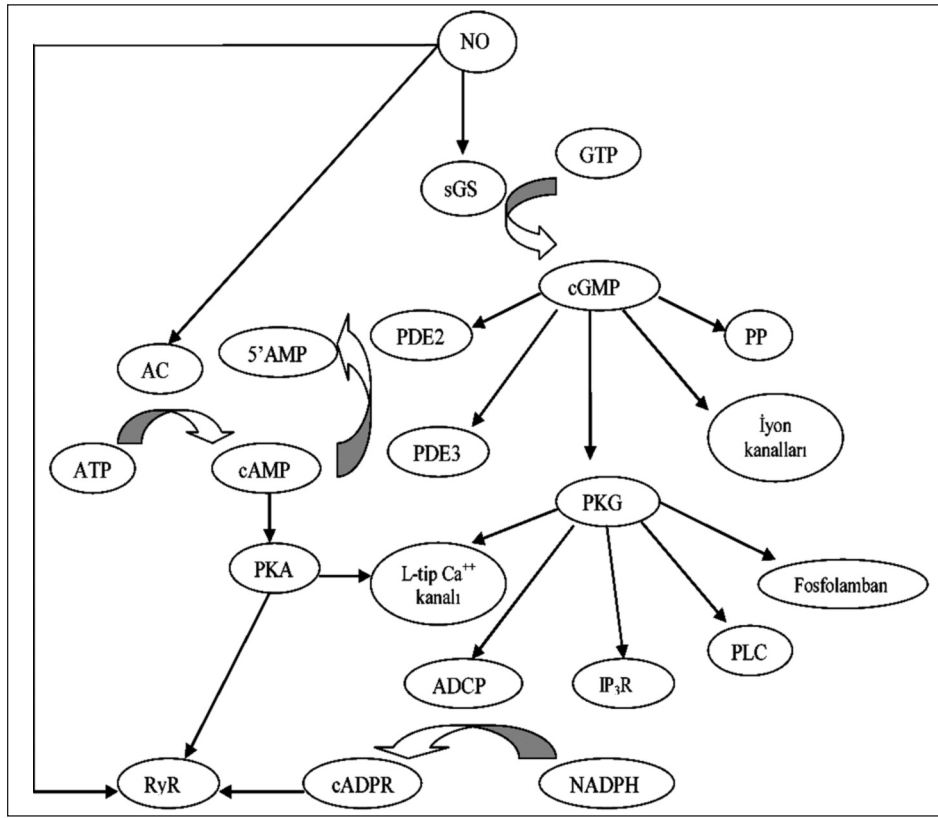
NO'nun uyarı iletim sistemlerinden ilk keşfedileni cGMP yoludur. cGMP, bütün hücrelerimizde hücre içi uyarı iletiminden sorumlu önemli bir ikinci haberci moleküldür. Uzun yıllar NO'nun etkisi cGMP'ye bağımlı mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmıştır. Ancak, daha sonra cGMP'den bağımsız yolların da olduğu ortaya çıkmıştır. Bu cGMP dışı yollar araştırılır iken NO'nun hücrede pek çok molekülü etkilediği gözlenmiştir.<sup>23</sup> Son yıllarda NO'nun uyarı ileti sistemi, hedef moleküller ile etkileşme mekanizmaları temel alınarak sınıflandırılmıştır. Buna göre NO, başlıca üç temel kimyasal tepkimeyle etkilerini oluşturmaktadır: Bu etkiler; nitrozilasyon, nitrozasyon ve nitrasyonudur.

**1. Nitrozilasyon:** NO'nun metal çekirdeklerine bağlanmasıdır (metal nitrozilasyonu). NO, hücrede bulunan birçok proteinin prostetik grubunda yer alan demir, bakır, çinko gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girerek, hücre içi enzim ve protein akti-

vitesini düzenleyebilmektedir.<sup>23,24</sup> NO'nun metal çekirdeklere bağlanması özellikle, hücrenin suda çözünen bölümünde bulunan çözünebilir guanilat siklaz [soluble guanylate cyclase (sGC)] enziminin aktivasyonu açısından önemlidir. sGC, alfa ve beta alt üniteye sahip, Hem grubunda ferröz demir içeren bir enzimdir. Bazal şartlarda hücrede nanomolar düzeyde bulunan NO, sGC'nin Hem grubuna bağlı hâldedir. NO, sGC enziminin hem prostetik grubundaki demire bağlandığında, enzimin guanozin trifosfat [guanosine triphosphate (GTP-cGMP)] çevriminden sorumlu olan katalitik ünitesinde konformasyonel değişim olur ve enzim aktivitesi artar. NO düzeyinde hızlı bir yükseliş olduğunda NO, sGC'nin Hem olmayan kısmına da bağlanarak sGC'nin tam aktivasyonuna yol açar.<sup>25</sup> NO'nun Hem demirine bağlanarak sGC'yi aktive etmesi nedeni ile bu enzimin aktivitesi hücrenin redoks durumundan etkilenmektedir. Demir içeren Hem grubunun oksidasyona uğraması, enzimin beta alt ünitesini NO'ya duyarısızlaştırabilmektedir.<sup>26,27</sup> NO'nun sitokrom-C enzimini inhibe etmesi de enzimdeki bakır çekirdeği ile etkileşimi sonucudur.<sup>23,24</sup>

sGC aktivasyonu sonucu artan cGMP, hücre içinde birçok hedef moleküle etkileşerek yanıtı şekillendirir. cGMP'nin hücrelerdeki ana hedefi, cGMP ile aktive olan protein kinaz (PKG) dır (Şekil 2). cGMP ile aktive olan PKG, inositol (1,4,5) trifosfat reseptörü [inositol (1,4,5) triphosphate receptor (IP<sub>3</sub>R)], fosfolamban, G proteinleri, L-tipi kalsiyum kanalları ve fosfolipaz C [phospholipase C (PLC)] gibi proteinleri fosforilleyerek aktivitelelerini düzenlemektedir.<sup>28</sup> Bunların dışında cGMP hücre içinde bazı iyon kanallarını [hiperpolarizasyonla aktive olan siklik nükleotid kapılı kanallar "hyerpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN)" siklik nükleotid kapılı kanallar "cyclic nucleotide-gated (CGN)"] da uyarabilmektedir.<sup>29</sup>

cGMP'nin diğer önemli hücre içi hedefi, cAMP ve cGMP'yi parçalayarak hücre içi etkinliklerini azaltan fosfodiesteraz [phosphodiesterase (PDE)] enzimleridir. PDE enzimleri metalli fosfohidrolazların bir üst ailesidir. cAMP ve cGMP'yi sırasıyla inaktif formları olan 5'-AMP ve 5'-GMP'ye



ŞEKİL 2: Nitrik oksidin hücre içi uyarı iletim mekanizması.

5'AMP: 5' adenozin monofosfat; AC: Adenilat siklaz; ADCP: Adenozin deaminaz kompleksi proteini; ATP: Adenozin trifosfat; cADPR: Siklik ADP riboz; PKA: Protein kinaz A; RyR: Riyanodin reseptörü; NADPH: İndirgenmiş nikotin adenin dinükleotid fosfat.

dönüştürmektedir. En az 21 farklı gen tarafından kodlandığı bilinen PDE enzimleri dizi benzerliğine, cAMP veya cGMP seçiciliğine ve düzenlenme mekanizmalarına göre 11 farklı gen ailesi (PDE1-11) olarak gruplandırılmıştır. PDE1, PDE2, PDE3, PDE10 ve PDE11 hem cAMP hem de cGMP'yi hidrolize edebilen seçici olmayan enzimlerdir. PDE4, PDE7 ve PDE8 yalnızca cAMP'yi; PDE5, PDE6 ve PDE9 ise yalnızca cGMP'yi hidrolize edebilen seçici enzimlerdir. Farklı türlerin kalplerinde dokuz PDE ailesinin (PDE1, PDE2, PDE3, PDE4, PDE5, PDE7, PDE8, PDE9, PDE11) varlığı gösterilmiştir. Ancak işlevlerin düzenlenmesinde hangisinin daha önemli olduğu konusunda tartışmalar sürmektedir. cGMP PDE2'yi aktive ederken, PDE3'ü inhibe etmekte ve böylece hücre içi siklik nükleotid düzeylerini etkilemektedir.<sup>30</sup> Bu düzenek aynı zamanda cAMP ile cGMP'nin "çapraz iletişim (cross talk)" yolunu da oluşturmaktadır.<sup>31</sup>

**2) Nitrozasyon:** NO, protein sistein rezidülerinin serbest tiyol gruplarına bağlanarak S-nitrozotiyol yapıları oluşturmaktadır. Bu mekanizma S-nitrozilasyon olarak da adlandırılmıştır. Protein S-nitrozilasyonu, dinitrojen trioksit veya nitrozonyum iyonu eklenmesi gibi mekanizmalarla da gerçekleşebilmektedir.<sup>32</sup> S-nitrozilasyon'un NF-κB, hipoksiyle indüklenebilen faktör "hypoxia inducible factor (HIF)" gibi transkripsiyon faktörleri, kaspazlar, N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptör iyon kanalları, G protein Ras ailesi, matriks metalloproteinazları ve riyanodin reseptörleri (RyR) nin düzenlenmesinde önemli olduğu bilinmektedir.<sup>24</sup> sGC'nin S-nitrozilasyonu ile inhibisyonu da gerçekleşebilmektedir.<sup>26</sup> Böylece hücre içi cGMP düzeyinde azalma gözlemlenebilmektedir. Trans-S-nitrozilasyon, S-nitrozilasyona uğramış proteinlerin arasına NO aktarımı yoluyla meydana gelmektedir. S-nitrozilasyon uyarısının, proteinle-

rin trans-S-nitrozilasyonu yoluyla çekirdeğe aktarılabilirdiği gözlenmiştir.<sup>32</sup>

**3) Nitrasyon İle Oksidasyon:** Bir nitrozo ( $\text{NO}_2$ ) grubunun, hedef molekülün aromatik karbonlarına bağlanması “nitrasyon” olarak bilinmektedir. Proteinler gibi lipitler ve alkoller de nitrasyona uğrayabilmektedir. Tirozin nitrasyonu hücre işlevleri açısından önem taşımaktadır. NO ve süperoksit radikalinin aşırı arttığı durumlarda, oksijen ve karbondioksit miktarına ve ortam pH'sine bağlı olarak, farklı tepkimeler ve radikaller ortaya çıkabilmektedir. Nitrozatif stres denilen bu durumda, peroksinitrit radikali ( $\text{ONOO}^-$ ) en çok üzerinde durulan reaktiftir. Peroksinitrit radikali güçlü bir oksidan olduğu için protein, lipit ve nükleik asitler ile etkileşebilmektedir.<sup>33</sup> Hücrede NO'nun kullandığı bu üç mekanizmadan hangisinin baskın olacağı hücrenin redoks dengesine bağlıdır. Bu dengenin sağlanmasında hücredeki  $\text{NO}/\text{O}^{\cdot}_2^-$  oranı önem taşımaktadır. Söz gelimi bazal  $\text{O}^{\cdot}_2^-$  derişiminde, NO artışı metal nitrozilasyonuna; artmış  $\text{O}^{\cdot}_2^-$  derişiminde NO oluşumu nitrozasyona; NO ve  $\text{O}^{\cdot}_2^-$ 'in birlikte aşırı üretimi nitrasyona sebep olabilmektedir. NO bazal seviyelerde iken  $\text{O}^{\cdot}_2^-$ 'in artışı oksidatif strese yol açarken, NO ve  $\text{O}^{\cdot}_2^-$ 'in birlikte arttığı durumlarda nitrozatif stresten söz edilmektedir. NO ve  $\text{O}^{\cdot}_2^-$  arasındaki bu hassas denge, kardiyak hasar oluşumu açısından ayrıca önem taşımaktadır.<sup>34</sup>

## NİTRİK OKSİDİN KALP ÜZERİNE ETKİSİ

NO'nun kalp üzerine olan etkileri sürekli tartışma konusu olmuştur. Bugüne kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde çelişkili birçok sonuca rastlanmaktadır. Bu çelişkili sonuçların en önemli nedeni NO'nun kalbe olan etkisinin türler arasında değişmesidir. Hayvan modellerinde çoğunlukla kurbağa, fare, sıçan, kobay ve tavşan kullanılmakta ve bu hayvanların kalplerinde NO'nun etkileri birbirinden farklı olabilmektedir. Bunun ötesinde, NO'nun etkileri kullanılan deneysel düzeneğe göre de değişebilmektedir. İn vivo koşullarda NO'nun kalp üzerine etkileri incelenir iken, sistemik etkiler de işe karışmaktadır. Bu etkilere bağlı olarak aktive ya da inhibe olan sistemler hormonal ya da otonom sinir sistemi aracılığıyla kalbi dolaylı olarak etkileyebilmektedir. NO'nun başka sistemlere olan etki-

sini kalpten ayırt etmek amacıyla kullanılabilecek preparat, izole perfüze tam kalptir (Langendorff preparatı). Tam kalp preparatında NO'nun kalbe doğrudan etkilerini gözlemek mümkündür. Ancak bu organ düzeyinde incelemede, NO'nun koroner damarı gevşetici etkisi de işe karışmakta, kardiyak kasılma ve ritim üzerine olan etkisini değiştirebilmektedir. NO'nun kalbe doğrudan etkilerinin gözlemlenebileceği preparatlar; izole kendiliğinden çalışan sağ atriyum, ventriküler ya da atriyal şeritler ve papiller kaslardır. Bu doku parçalarında NO'nun hem kasılma hem de nodal ritim üzerine doğrudan etkileri izlenebilmektedir. Öte yandan, NO'nun kalpteki reseptörler ya da iyon kanalları gibi moleküller üzerine etkilerini araştırmak için izole kardiyak miyositler kullanılmaktadır. Kardiyak miyositler ise enzimlerle izole edilmekte ve enzimatik işlemlerden geçmiş hücre yanıtları da sağlam dokudan farklı olabilmektedir.

Sonuçta NO'nun kalp üzerine olan etkileri türe, in vivo-in vitro deney düzeneğine ve kullanılan preparatın organ, doku veya hücre oluşuna göre değişebilmektedir. Mevcut bilgilerin bu önemli noktalar göz önünde bulundurularak irdelenmesi gerekmektedir.

## NİTRİK OKSİDİN KALP KASILMALARI ÜZERİNE ETKİSİ

NO'nun kalp kasılmaları üzerine olan etkisi, bir önceki bölümde söz edilen nedenlerden dolayı tartışmalıdır.<sup>35</sup> NO'nun pozitif ya da negatif inotropik etkisi olduğunu gösteren pek çok çalışma yayımlanmıştır.<sup>36-40</sup> NO etkisindeki bu farklılıkların kullanılan hayvan türü, deney preparatı (tam kalp, izole doku, hücre) ve örneğin alındığı farklı kalp bölgelerinin (atriyum, ventrikül, sağ-sol) ötesinde; kullanılan NO vericisine, uygulanan NO derişimine ve örnekteki redoks dengesine de bağlı olabileceği ortaya konmuştur.<sup>41-44</sup>

Kalpte NO, fizyolojik şartlarda üretilmekte ve kalp işlevlerini değiştirebilmektedir. Koroner damar yatağı (arter-kapiller-ven) endotel hücrelerinde bulunan eNOS'nin yanı sıra; kardiyak miyositlerde de NOS enzimleri ifade edilmektedir. Ancak kalp hücrelerinde NOS izoformları hücre içinde farklı bölgesel dağılım göstermektedir. Bu

durum farklı NOS izoformlarının bölgesel olarak farklı etkiler ortaya çıkarmasına neden olmaktadır. eNOS, kaveolada ve T-tüplerinin diad bölgesinde bulunur iken, nNOS sarkoplazmik retikulum (SR) zarındaki iyon kanalları çevresinde bulunmaktadır. iNOS ise patolojik durumlarda hem koroner damar yatağında hem de kardiyak miyositlerde ifade edilebilmektedir. eNOS, beta adrenerjik inotropiyi inhibe ederken; buna zıt olarak nNOS, RyR aracılığıyla kalsiyum salınımını uyararak pozitif inotropik etki gösterebilmektedir.<sup>45,46</sup> eNOS'nin inotropi üzerine olan negatif etkisinin nNOS ile dengelenebildiği görülmektedir. Öte yandan, nNOS kaynaklı NO'nun, serin/treonin protein fosfataz yoluyla sarko-endoplazmik retikulum kalsiyum-adenozin trifosfat [sarco-endoplasmic reticulum calcium-adenosine triphosphatase (SERCA)] üzerinden, kardiyomiyositlerde gevşemeye neden olabildiği de gözlenmiştir.<sup>47,48</sup>

Farklı NOS izoformlarının aktive edilmesiyle farklı etkilerin gözlenmesinde ortama salınan NO derişimindeki farklılığın da rolü olduğu düşünülmektedir. Yapısal NOS ortama femtomolar-pikomolar derişimde NO salmakta ve dokuda fizyolojik düzenlemede görev almaktadır. Dokularda sadece enfeksiyöz ve inflamatuvar uyarı ile ifade edilen iNOS ise mikromolar derişimde NO salıvermekte ve bazal miyokard kontraktilitesinde azalmaya, hücre ölüm hızında artmaya sebep olmaktadır.<sup>49</sup> Ayrıca NO'nun etkisinin, uygulanan miktardan bağımsız olarak endojen ve ekzojen NO'nun toplam miktarına bağımlı olarak da değiştiği öne sürülmüştür.<sup>42</sup>

Çalışmalarda, kullanılan farklı NO vericilerinin kullanılan hayvan türü, hedef doku çeşidi, uygulama derişimi ve ortamın redoks dengesine de bağılı olarak kalpte farklı etkilere neden olabildiği gözlenmiştir. NO vericisi SIN-1 sıçan sol ventrikül papiller kasında negatif inotropik etkiye neden olur iken, kedi papiller kasında pozitif inotropik etkinlik göstermiştir.<sup>40,50</sup> Diğer bir NO vericisi sodyum nitroprussid, kobay kalp miyositlerinde kasılma yanıtında azalmaya neden olur iken, kedi papiller kasında pozitif inotropik etkiye neden olmuştur.<sup>50,51</sup> Bazı çalışmalarda ise NO ve cGMP'nin düşük derişimlerde miyokardiyal kontraktiliteyi artırır iken,

yüksek derişimlerde negatif inotropik etki ortaya çıkardığı gözlenmiştir.<sup>36,44</sup> İzole kedi papiller kasında düşük doz NO-salan nitrovazodilatör (sodyum nitroprussid, S-nitro-N-asetil penisilamin, SIN-1) ve cGMP analogu 8-bromo-cGMP'nin uygulanması pozitif inotropik yanıt oluşturur iken, yüksek doz uygulama negatif inotropik yanıtı sebep olmuştur.<sup>50</sup> Bununla birlikte NO etkisi için düşük ve yüksek derişimi tam olarak tanımlamak zordur. NO vericileri ortama NO yanında, NO<sup>+</sup> ve NO<sup>-</sup> da salılabilmektedir. Bu farklı NO formlarının oranı kullanılan verici çeşidi ve ortamın redoks durumuna göre değişmektedir. Böylece, farklı NO donörleri ile hedef dokudaki etkin NO miktarı farklı olabilmekte ve dokuda farklı moleküller uyarılabilmektedir.<sup>44</sup> Organik nitratların sıçan kardiyomiyositlerinde orta düzeyde bir cGMP artışını tetikleyerek protein kinaz (PKA) aktivasyonuna ve artmış kasılma yanıtına; spontan NO vericilerinin ise yüksek düzeyde bir cGMP artışını tetikleyerek PKG aktivasyonuna ve azalmış kasılma yanıtına neden olduğu gözlenmiştir.<sup>52</sup>

Dokuda patoloji varlığı da NO yanıtını önemli ölçüde etkilemektedir. Redoks dengesinin bozulduğu hastalık durumlarında O<sup>2</sup>·<sup>-</sup>, NO'nun etkilerini sınırlayabilmektedir.<sup>22</sup> Ayrıca patolojik süreçler sırasında kalpte NOS ekspresyon profili değişmektedir. Hipertrofik kardiyomiyopatide nNOS ve iNOS ekspresyonunun arttığı, eNOS ekspresyonunun ise azaldığı bilinmektedir. Bu durum da dokudaki etkin NO derişiminde önemli değişikliğe neden olmaktadır.<sup>53</sup> Kalpte patoloji varlığı eNOS'nin kaveolin, nNOS'nin ise RyR reseptörleriyle ilişkisini bozarak fizyolojik yanıtı saptırmalara neden olmaktadır.<sup>35,54,55</sup> nNOS'nin, sağlıklı kalpte sitozolik SR membrana yakın iyon kanalları çevresine yerleşim gösterirken, kalp yetersizliğinde sitozolden SR membrana ve miyokard infarktüsü gibi iskemi durumlarında ise hem SR membrana hem de iskemiye uğrayan kardiyomiyositlerin T-tübülüne yer değiştirebildiği görülmüştür.<sup>46,55,56</sup> Kalp hastalıklarının patogenezinin sorumlu tutulmakla birlikte, NO'nun kalp yetersizliğinde artmış olan β-adrenerjik uyarıyı zayıflatması nedeni ile, iNOS ve nNOS'nin aynı zamanda koruyucu etkilerinin de olabileceği düşünülmektedir.<sup>54,57</sup>

cAMP ve cGMP, kalp fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynayan ikinci habercilerdir. Beta-adrenerjik agonistler, glukagon, histamin gibi birçok hormon ve nöromediyatörün pozitif inotropik etkileri, cAMP sentezini artırmalarına veya cAMP yıkımını azaltmalarına bağlanmıştır. Zira PKA'nın L-tipi kalsiyum kanallarını ve RyR-kanallarını fosforilleyerek aktive ettiği ve böylece hücre içi kalsiyum düzeyini artırdığı bilinmektedir. ACh'nin, natriüretik peptitler ve NO'nun cGMP seviyesini artırarak negatif inotropik etki göstermesi cGMP'nin doğrudan etkileri veya cAMP seviyesi üzerine negatif etkisiyle açıklanmıştır.<sup>28,58</sup> Hücrede cGMP, PDE3'ü inhibe ederek hücre içi cAMP derişiminde artışa ve dolayısıyla PKA aktivasyonuna da sebep olabilmektedir. Bununla birlikte NO, doğrudan RyR-kanallarını S-nitrozilleyerek açılmalarını sağlayabilmektedir. Ayrıca PKG aracılığıyla adenosin difosfat ribozil siklaz [adenosine diphosphate ribosyl cyclase (ADPRC)] enzimini uyarmakta ve bu sayede artan siklik adenosin difosfat riboz (cADPR) da RyR kanallarını açmaktadır. Bütün bu mekanizmalarla gerçekleşen hücre içi kalsiyum artışı, NO ve cGMP'nin pozitif inotropik etkilerinden sorumlu tutulmaktadır.<sup>42</sup>

NO'nun negatif inotropik etkisi ise cGMP'nin PDE2'yi uyararak cAMP derişimini azaltması ve aktive olan PKG'nin L-tipi kalsiyum kanallarını bloke etmesiyle açıklanmaktadır. Ayrıca PKG'nin, Troponin C'nin kalsiyum duyarlılığını azaltarak negatif inotropik etkiye katkı sağladığı düşünülmektedir.<sup>41,42,49,59</sup>

NO'nun kalp kasılmalarını artırmasının ya da azaltmasının derişime bağımlı olduğu yönünde de açıklamalar vardır. PDE3'ün cGMP'ye afinitesi yüksek olduğu için düşük NO derişiminde PDE3 inhibe olmaktadır. Böylece düşük NO ve cGMP derişiminde hücre içi cAMP artarak pozitif inotropik etki ortaya çıkmaktadır. Yüksek cGMP ve NO derişiminde ortaya çıkan negatif inotropik etki ise yüksek cGMP derişimlerinde PDE2'nin uyarılmasıyla ve böylece hücre içi cAMP derişiminin azalmasıyla açıklanmaktadır.<sup>42,59-61</sup> Buradan da anlaşılacağı üzere, NO'nun cGMP'ye bağıli etkileri derişime bağıli olarak hem kasılma hem gevşeme şeklinde görülebilmekte ve bu yanıtlar için hücrenel hedefler ve araçlar farklılık gösterebilmektedir.

NO'nun kalpte hem pozitif hem negatif inotropiye neden olabildiğini deneyde kullanılan hayvan türüne, hedef doku çeşidine ve preparat farklılığına bağlayan çalışmalar da vardır.<sup>44</sup> Tam kalp preparatları ile yapılan deneylerde cGMP kasılma yanıtını engellemektedir. Fakat farklı ajanlarla cGMP seviyesi değiştirildiğinde ortaya çıkan yanıtlar her zaman gevşeme yönünde olmamaktadır.<sup>28</sup> NO vericileri ile sıçanlar üzerinde yaptığımız bir çalışmada, yüksek dozda uygulanan NO vericisinin sağ atriyum üzerinde negatif inotropik etkisi gözlenmiştir. Çalışma kapsamında bu etkiye, sGC uyarımı ve [adenozin trifosfat [adenosine triphosphate (ATP)] bağımlı potasyum kanallarının aktivasyonunun aracılık ettiği anlaşılmıştır. Aynı etki, papiller kaslarda ise gösterilememiştir.<sup>62</sup> Öyle gözlenmektedir ki NO, kalbin farklı bölgelerinde farklı mekanizmalar aracılığıyla farklı etkiler göstermekte ve NO'nun kalp üzerindeki etkilerini genellemek yanıltıcı olabilmektedir. Ayrıca, farklı tür ve dokularda hücrelerin PDE izoform profili farklı olmaktadır.<sup>60,63</sup> Yine NO'nun bazı adenilat siklaz izoformlarını doğrudan inhibe ettiği bilinmektedir. Böylece hücrenin sahip olduğu PDE ve adenilat siklaz izoformu, NO'nun hücredeki etkisinin cAMP'yi artırıcı yönde mi, yoksa azaltıcı yönde mi olacağını belirleyebilmektedir.<sup>58,64</sup> Nitekim sıçan kalbinin farklı bölgelerinde DEA/NO ve 8-Br-cGMP yanıtlarını incelediğimiz bir çalışmamızda, PDE aktivitesindeki farklılıkların kalbin farklı bölgelerinde farklı NO yanıtlarının gelişmesinden sorumlu olabileceği gözlenmiştir.<sup>65</sup>

Bütün bu faktörlere ek olarak, hücredeki oksidan radikaller ve kardiyak miyositlerde yoğun olarak bulunan miyogloblin gibi NO yakalayıcılar da NO'nun etkili derişimini azaltabilmektedir. Bu durum farklı tip hücrelerin NO'ya yanıtlarının farklılığına katkıda bulunmaktadır.

## NİTRİK OKSİDİN KALP HIZI ÜZERİNE ETKİLERİ

NO'nun kalp hızının düzenlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir. Fakat bu etkinin karakterini belirlemek zor olabilmektedir. NO'nun hem kalbin otonom kontrol mekanizmalarını hem de sino-Atriyal düğüm (SAD) üzerine doğrudan etkisiyle kalp hızını kontrol edebildiği anlaşılmıştır. Verici kalbi



SAD'de reinervasyon olmadığı gösterilen dokuz kalp transplant alıcısında NOS inhibitörü N-monometil L-arjinin (L-NMMA) ile bradikardi gözlenir iken, NO vericisi sodyum nitroprussid doz bağımlı olarak taşikardiye sebep olmuştur.<sup>66</sup>

SAD ve diğer kalp 'pacemaker' hücrelerde 'pacemaker' potansiyellerin oluşumunda ve dolayısıyla kalp atım hızının düzenlenmesinde başlıca rol oynayan kanallar: T ve L tipi kalsiyum kanalları, potasyum kanalları ve HCN kanallarıdır. Kalsiyum kanal aktivitesi ile içeri yönlü katyon akımı sonucu depolarizasyon gerçekleşir iken, potasyum kanalları dışarı yönlü katyon akımı oluşturarak repolarizasyona sebep olurlar.<sup>29,67</sup> Geç repolarizasyon fazında HCN kanalları aktive olarak yavaş depolarizasyona neden olmaktadır. Kalpte HCN kanalları aracılığıyla sağlanan bu akım  $I_f$  akımı (funny current) olarak adlandırılmıştır.  $I_f$  akımını artıran maddeler kalp hızını artırır iken, akımı azaltanlar bradikardiye sebep olmaktadır. Kanal aktivasyonu hücre içi cAMP derişimi ile düzenlenebilmektedir. Beta-agonistler hücre içi cAMP düzeyinde artışa sebep olarak HCN kanallarının uyarılabilmesini sağlamaktadır. ACh ise  $K^+$  akımını artırmasının yanında hücre içi cAMP düzeyinde azalmaya sebep olarak, HCN kanallarının aktivasyonunu azaltmaktadır. Bu yolla ACh bradikardik etki ortaya çıkarmaktadır.<sup>68</sup> cAMP yanında cGMP'de  $I_f$  kanalını aktive edebilmektedir. Fakat aktivasyon için gerekli cGMP derişimi cAMP derişiminden 10-100 kat daha fazladır.<sup>29</sup> Bu nedenle NO'nun  $I_f$  akımı üzerindeki etkisinin cAMP/PKA yolağı üzerinden gelişebileceği düşünülmüştür. İzole kobay atriyumunda yapılan bir çalışmada, PDE3 ve PKA inhibisyonu NO'nun pozitif kronotropik etkisini zayıflatmıştır. NO uyarısıyla artan cGMP'nin PDE3'ü inhibe ederek hücre içi cAMP düzeyini artırdığı, artan cAMP'nin ise doğrudan veya PKA aracılığıyla  $I_f$ 'yi aktive ettiği düşünülmektedir. Aynı çalışmada, SR kalsiyum salınımının baskılanması da NO'nun pozitif kronotropik etkisini zayıflatmıştır.  $I_f$  akımının düzenlenmesinde hücre içi kalsiyum düzeyinin de önemli olduğu bilinmektedir. Buradan hareketle NO'nun SR kalsiyum akımını artırmasının  $I_f$  aktivasyonuna ve dolayısıyla NO'nun kronotropik etkisine katkıda bulunduğu söylenebilir.<sup>69</sup>

Sıçan izole sağ atriyumunda dietilamin (DEA)/NO ile yaptığımız çalışmada, DEA/NO'nun yüksek derişimlerinde negatif kronotropi gözlenmiştir. DEA/NO etkisiyle ortaya çıkan negatif kronotropi, sGC inhibitörü (ODQ), PKA (KT5720) ve PKG inhibitörü (KT5823), ATP duyarlı potasyum kanal blokörü (gliburid) ve L-NMMA'dan etkilenmemiş, yalnızca süperoksit dismutaz ile engellenebilmiştir. Bu nedenle NO'nun kalp hızı üzerine olan etkisinin redoks düzenleme ile süperoksit aracılığıyla olduğu düşünülmüştür.<sup>62</sup> İzole sıçan sağ atriyumunda DEA/NO ile ortaya çıkan negatif kronotropi, PDE1 ve PDE4 inhibitörleri ile engellenebilir iken; PDE2, PDE3 ve PDE5 inhibisyonundan etkilenmemiştir. PDE'ye dirençli cGMP analogu 8-Br-cGMP'nin, sinüs hızı üzerine herhangi bir etkisi gözlenmemiştir.<sup>65</sup>

## NİTRİK OKSİDİN KORONER DAMARLAR ÜZERİNE ETKİSİ

NO'nun, periferik damar ağının yanı sıra bazal koroner vasküler tonusun düzenlenmesinde de önemli bir molekül olduğu bilinmektedir.<sup>70</sup> Fizyolojik şartlarda, koroner vasküler tonusun endotel hücrelerinden NO salgılanması ile düzenlendiği düşünülmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda gözlemler, belirli aralıklarla olan geçici NO salıverilmeleri sonucu, damar düz kasında sGC aktivasyonu ve takiben sGC inaktivasyonunun uygun vasküler tonusun sağlanmasında etkin olduğu yönündedir.<sup>71</sup> Vazodilatör etkinin hayvan türüne ve damar tipine bağlı olarak cGMP aracılı ya da cGMP'den bağımsız olabileceği gözlenmiştir. Sürünme stresi olarak bilinen "shear stress"e bağlı vazodilatasyon da NO aracılığıyla gerçekleşmektedir.<sup>72</sup> Kalpte önemli miktarda NO'nun koroner dolaşıma salındığı anlaşılmıştır.<sup>73</sup> Büyük epikardiyal koroner arterlerin gevşemesinde NO birincil öneme sahiptir. Ayrıca, koroner mikrodolaşımda akımla uyarılan gevşeme yanıtına aracılık etmektedir.<sup>74</sup> Domuz kalbinde NO'nun NG-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ile kronik inhibisyonunun koroner arterlerin endotel-bağımlı fonksiyonlarını bozduğu gösterilmiştir.<sup>75</sup> İzole perfüze kalp preparatlarında L-NMMA'nın bazal koroner damar direncini artırdığı ve ACh, bradikininin

gibi endotel-bağımlı ajanların vazodilatasyon yanıtını zayıflattığı gözlenmiştir.<sup>76,77</sup> NO'nun kalp gelişimi esnasında anjiyogenez sürecinde de rolü olduğu düşünülmektedir. Bu düşüncüyü destekler nitelikte, eNOS enzimi olmayan farelerde yapılan çalışmalarda kardiyak anjiyogenez ve kapiller gelişiminde bozulma olduğu gösterilmiştir.<sup>78</sup>

## NİTRİK OKSİDİN KARDİYOYASKÜLER HASTALIKLARDA ROLÜ

### HİPERTANSİYON

NO, periferal arterlerde bazal vasküler tonusu ve vasküler direnci düzenleyerek kan basıncının kontrolünde önemli rol oynamaktadır. Arteriyel yatak sürekli olarak NO üretiminin etkisi altındadır. Bu yüzden endoteldeki herhangi bir hasar NO üretimini değiştirerek endotelin vasküler tonus üzerindeki düzenleyici etkisini bozmaktadır.<sup>79</sup> Sürtünme stresi ile uyarılan vazodilatasyon yanıtının, hipertansif hastalarda zayıfladığı ya da ortadan kalktığı gözlenmiştir. Bunun nedeninin azalmış NO aktivitesi olduğu düşünülmektedir.<sup>72</sup> Esansiyel hipertansiyonu olan hastalarda endotel kaynaklı NO sisteminde bozukluk olduğu ortaya konmuştur. Bu bozukluk ise artmış vasküler dirençle birlikte, endotel bağımlı vazodilatör maddelere bozulmuş yanıt ile ilişkilendirilmiştir. Esansiyel hipertansiyonu olan hastalar ile normotansif hastalar karşılaştırıldığında, hipertansif hastalarda bazal NO salınımında eksiklik olduğu anlaşılmıştır. Bazal salınımdaki bu bozukluk, hem vasküler direnci artırmakta hem de endotel kaynaklı diğer vazoaktif ajanlara yanıtı bozmaktadır.<sup>80</sup> Hayvan modellerine bakıldığında ise spontan hipertansif sıçanlarda (SHR) yapılan deneylerde ACh ve ADP ile tetiklenen endotele bağımlı gevşeme yanıtlarının karotid arterde azalmış olduğu gözlenmiştir. Bu sıçanlara indometazin verildiğinde ise karotid arterin ACh'ye yanıtında değişim görülmemiş olup, ACh'ye bağlı gevşemenin prostasiklinden ziyade NO kaynaklı olduğu sonucuna varılmıştır.<sup>81</sup> SHR'lere tedavi olarak resveratrol verildiğinde, oksidatif strese azalma, endotel bağımlı vazodilatasyonda düzelme ve kan basıncında düşüş ile HT gelişiminde azalma görülmüştür.<sup>82</sup> Resveratrol'un

hipertansiyondaki iyileştirici etkisi DOCA-tuz modelinde de ortaya konmuş ve ayrıca damarda hipertansiyonla gelişen epigenetik değişiklikleri de etkilediği bildirilmiştir.<sup>83</sup> Tavşanlarda yapılan deneylerde, NO inhibitörü L-NMMA uygulanması sonucunda sistemik arteriyel kan basıncında artış gözlenmiştir. Doz bağımlı olarak, hem kan basıncındaki artış miktarı hem de kan basıncı yüksekliğinin süresi uzamıştır. Bu etki L-arjinin uygulanması ile geri döndürülmüştür.<sup>84</sup> Sıçanlarda bazal NO sentezinin kronik olarak inhibe edildiği deneylerde de sistemik kan basıncında belirgin artış gözlenmiştir.<sup>85</sup> Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar da göstermektedir ki NO normal vasküler tonusun devamlılığı için gereklidir ve NO eksikliği hipertansiyon oluşumuna katkıda bulunmaktadır.

### KALP YETERSİZLİĞİ

Sağlıklı bir kalpte endojen NO kardiyak kasılma üzerinde bazal bir etkinliğe sahiptir. Bu etkinlik kalp yetersizliği olan hastalarda kaybolmuştur. Sağlıklı bireyler ile orta derecede kalp yetersizliği olan hastalarda NO'nun güç-frekans ilişkisi üzerine önemli bir etkinliği gösterilememiştir.<sup>86</sup> Ancak, kalp yetersizliği olan hastaların koroner dolaşımında bazal NO miktarında azalma saptanmıştır. Bu azalmanın üretim ve/veya salıverilme eksikliğinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir.<sup>87</sup>

NO, kronik kalp yetersizliği olan hastalarda sol ventrikül fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev almaktadır. Kalp yetersizliği olan hastalarda iNOS aracılı artmış kardiyak NO üretimi, beta adrenerjik uyarıya cevaben oluşan pozitif inotropiyi zayıflatmakta ve gevşemeyi hızlandırmaktadır.<sup>88</sup> Ayrıca, nNOS kaynaklı NO'nun da yetmezlik olan kalpte arttığı düşünülmektedir.<sup>55</sup> Son dönem kalp yetersizliği olan hastaların kalp kası hücrelerinde eNOS ve iNOS ekspresyonlarında artış gözlenir iken, yapılan bir başka çalışmada eNOS ekspresyonunda azalma, iNOS ekspresyonunda ise artış gözlenmiştir.<sup>88,89</sup>

İzoproterenolle oluşturulmuş kalp yetmezliği sıçan modellerinde, NO sentaz kapasitesinde artma gözlenmiştir. Bu artışa rağmen, yetersizlik olan kalpte kasılma fonksiyonu üzerinde olumlu etki gözlenmemiştir. Fakat oluşan bu NO'nun, kalp hızı

üzerine etkileri olabileceği öngörülmüştür. Bu etkiler; bazal kalp hızını artırmak ve beta adrenerjik uyarıya cevaben oluşan pozitif kronotropiye katkı sağlamak olarak sıralanabilir.<sup>90</sup> Transgenik farelerle oluşturulmuş konjestif kalp yetersizliği modelinde ise miyokardiyal iNOS protein düzeyleri artmıştır.<sup>91</sup>

### KORONER ARTER HASTALIĞI

Koroner arter hastalığının patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülen mekanizmalardan biri, NO'nun düzensiz salınmasıdır. Koroner arter hastalarında yapılan çalışmalarda, plazma NO seviyesinin göstergesi olan nitrit ve nitrat düzeyleri yüksek bulunmuş olup; hiperglisemi, hiperlipidemi ve hipertansiyonun eşlik ettiği koroner arter hastalarında plazma düzeyinin daha da yüksek olduğu gözlenmiştir.<sup>92,93</sup> Benzer ilişki, koroner arter hastalarının beden kitle indeksi (BKİ) ile NO düzeyleri arasında da gösterilmiştir. BKİ'si 25 kg/m<sup>2</sup>'nin üzerinde olan hastalarda plazma NO düzeyleri daha yüksek bulunmuştur.<sup>93</sup> Bu bulgulara rağmen, koroner arter spazmı bulunan hastalarda hem bazal hem de uyarılmış NO salınımında bozulma görülmüştür.<sup>94</sup> Ayrıca miyokard infarktüsü riskinin, cGMP bağımlı NO uyarı yolunda bozukluk olan kişilerde arttığı düşünülmektedir. Bu risk artışı, trombüs oluşumunun artmasıyla açıklanmaktadır. Çünkü NO trombosit agregasyonunu inhibe etmektedir.<sup>95</sup> Bu bulgular NO düzeylerindeki artışın, koroner arter hastalarında artmış miyokard infarktüsü riskine karşı dengeleyici bir mekanizma gibi işlediğini; bu dengeleyici mekanizmanın yeterince etkin olmadığı bireylerde ise miyokard infarktüsü riskinin artabileceğini düşündürmektedir. NO ile miyokard infarktüsü ilişkisini güçlendirir nitelikte olan bir diğer çalışma Nakata ve ark.nın çalışmasıdır. Bütün NOS izoformlarının silindiği farelerde, spontan miyokard infarktüsüne bağlı ölümler görülmüştür. Bunun yanı sıra kan basıncı artışı, hiperlipidemi, viseral obezite gibi kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkışını kolaylaştırıcı etmenlerde artış ve perivasküler fibroz ile mediyal kalınlaşma gibi vasküler patolojiler gözlenmiştir.<sup>96</sup> Bu çalışma ile NO'nun kardiyovasküler patolojileri önleyici etkileri bir kez daha ön plana çık-

mıştır. NO'nun faydalı etkilerinin yanında göz ardı edilmemesi gereken bir diğer durum ise miyokard infarktüsü ile indüklenen iNOS'dir. İskemi sonrası reperfüzyon döneminde iNOS tarafından fazla miktarda üretilen NO, infarktüs sahasını genişletmekte ve sol ventrikül fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunmaktadır.<sup>97</sup>

### İSKEMİ VE REPERFÜZYON HASARI

Kısa süreli iskemilere maruz kalan organlarda, daha sonra gelişen ciddi iske mi/reperfüzyona karşı direnç artışı "iskemik ön koşullanma" olarak bilinmektedir. Akut miyokardiyal iske mi veya iske mi sonrası reperfüzyon, ventriküler taşikardi veya ventriküler fibrilasyon gibi ölümcül kardiyak aritmilere neden olabilmektedir. Köpek miyokardında yapılan ön koşullanmada, NO üretimini aritmiyi azaltıcı etkileri olduğu gözlenmiştir. Bu etkinin cGMP aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmektedir.<sup>98</sup> Sıçanlarda yapılan deneylerde ortaya konmuştur ki kardiyak iske mi/reperfüzyonun sonuçları sadece kardiyomiyositelerle sınırlı olmayıp, koroner endotele kadar etkileri gözlenmekte ve NO bağımlı gevşeme yanıtı azalmaktadır. Oluşan bu işlevsel ve yapısal hasarlar ön koşullanma ile önlenmektedir.<sup>99</sup> Benzer bir çalışma domuzlarda NO vericisi pirsidomin ile yapılmıştır. Pirsidomin, iske miye bağı aritmi oluşumunu engelleyememesine rağmen, oluşan aritmileri azaltmış ve vazodilatasyon yaparak iskemiden koruyucu etki göstermiştir.<sup>100</sup> Bu verilere karşın sıçan koroner arterinde iske mi ya da reperfüzyon ile tetiklenen aritmilerde, NO vericilerinin aritmiyi önleyici etkilerine rastlanmamıştır. Ayrıca, köpek miyokardında olduğu gibi cGMP artışı da görülmemiştir.<sup>101</sup> Yine sıçan kalbinde yapılmış benzer bir çalışmada ne NO vericisi ne de endojen olarak oluşan NO'nun kendisi iske mi kaynaklı aritmileri önleyememiştir. L-NAME (NOS inhibitörü) ve metilen mavisi (GC inhibitörü) ise yüksek dozlarda kullanıldığında, bu aritmileri önlemede başarılı olmuştur. Ön koşullanmanın antiaritmik etkisi, en azından sıçanlar için NO'dan bağımsız gibi gözükmektedir.<sup>102</sup> Fakat, Pabla ve ark.nın sıçan kalbinde yaptıkları sürekli iske miyi takiben reperfüzyon deneyinde, her ne kadar altta yatan mekanizma ortaya konmamış olsa da NO'nun

ventriküler fibrilasyonu önleyici etkisi görülmüştür.<sup>103</sup> Sol ventrikül hipertrofisi, iskemi/reperfüzyon hasarı, miyokardit, kalp yetersizliği gibi kardiyovasküler patolojilerde eNOS'den üretilen NO genel olarak olumlu, iNOS'den üretilen NO ise genel olarak olumsuz etki göstermektedir.<sup>41</sup> Fare modellerinde iskemi/reperfüzyon hasarını takiben, mitokondride nNOS birikimi gözlenmiştir. nNOS'nin aşırı ifade edildiği transgenik fare modellerinde de nNOS'nin çoğunlukla mitokondride bulunduğu ve iskemi/reperfüzyon hasarı sonrası meydana gelebilecek oksidatif durumu engelleyerek infarkt alanını küçülttüğü ortaya konmuştur.<sup>104</sup> nNOS'nin reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu ve nitrit aracılı mitokondri inhibisyonu yoluyla miyokardiyal oksijen tüketimini azaltarak bu kardiyoprotektif etkiyi ortaya çıkardığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, NOS enzimlerinin farklı modellerde hem "reaktif oksijen türevleri" hem de "reaktif nitrojen türevleri" üretimine katkıda bulunduğu ve iskemi/reperfüzyon hasarı üzerinde hem artırıcı hem de azaltıcı etki gösterebildiği gözlenmiştir.<sup>34</sup>

#### KARDİYAK ARİTMİLER

nNOS ve eNOS enzimlerinin işlev bozukluğu atriyal fibrilasyon oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle bu enzimlerin kalbin elektriksel aktivitesinde düzenleyici rolü olabileceği düşünülmektedir.<sup>105</sup> Kısa süreli atriyal fibrilasyon durumunda NADPH oksidaz aktivitesi, uzun süreli atriyal fibrilasyon veya atriyoventriküler blok varlığında ise NOS "uncoupling" ile mitokondriyal oksidaz aktivitesi nedeni ile atriyal oksidan stresin arttığı gözlenmiştir.<sup>106</sup> Atriyal süperoksit ve peroksinitrit üretimi, atriyal fibrilasyon gelişme riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir.<sup>107</sup> Atriyal fibrilasyonlu hastalarda yapılan çalışmalarda, plazma nitrit ve nitrat derişimi ile trombosit cGMP seviyeleri düşük bulunmuştur. Plazma NO seviyesindeki azalmanın atriyal fibrilasyon hastalarındaki hemostatik anormalliklerle ilişkili olabileceği düşünülmüştür.<sup>108</sup> Domuz atriyal fibrilasyon modelinde de atriyal NOS aktivitesi, NO biyoyararlanımı ve atriyal NO sentezinde azalma gözlenmiştir.<sup>109</sup>

#### İNFLAMATUAR KALP HASTALIĞI

İnflamatuvar kalp hastalıklarında iNOS'ye bağlı değişikliklerin öne çıktığı görülmektedir. Fare ve sıçanlarda oluşturulan viral miyokardit modellerinde, viral enfeksiyonun kalpte iNOS aktivasyonunu artırdığı ve üretilen NO'nun da viral replikasyonu inhibe ederek antiviral etki gösterdiği ortaya konmuştur.<sup>110</sup> Ancak, iNOS immün yanıtı sağladığı bu katkının yanı sıra aynı mekanizma ile miyokard hasarına da neden olmaktadır. Otoimmün sıçan miyokardit modellerinde, iNOS kaynaklı NO'nun, ortamda bulunan süperoksit radikali ve peroksinitrit ile reaksiyona girerek tirozinleri nitrozilediği ve böylece miyokardiyal hasarı artırdığı gözlenmiştir.<sup>111</sup> Domuzlarda oluşturulan viral perikardit ve miyokarditte, lezyonlu alanda iNOS ifadesinde artışa rastlanmıştır.<sup>112</sup> Yine sıçanlarda oluşturulmuş deneysel otoimmün miyokarditte, lezyon alanında normal kalp dokusunda rastlanmayan iNOS birikimi gözlenmiştir. Miyokardit modeli oluşturulur iken erken dönemde iNOS inhibitörü uygulandığında ise miyokardiyal inflamasyon belirgin olarak azalmış ve model oluşturulamamıştır.<sup>113</sup>

#### KARDİYOMİYOPATİLER

Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ )'nın iNOS'yi indükleyerek, dilate kardiyomiyopati patogenezinde rol oynadığı ve tromboemboli gibi komplikasyonlara yatkınlığı artırdığı düşünülmektedir.<sup>114</sup> Yine iNOS kaynaklı NO, inflamatuvar olan ve olmayan dilate kardiyomiyopati ile peripartum kardiyomiyopatilerde kasılmayı azaltıp, dilatasyonu artırarak patogeneze katkı sağlamaktadır.<sup>115</sup>

Hipertrofik kardiyomiyopati hastalarının plazmalarında yapılan ölçümlerde, L-arjininden NO üretimini engelleyen asimetric dimetilarjinin (ADMA) ve simetric dimetilarjinin (SDMA) düzeylerinde artış saptanmıştır. Aynı zamanda arjinin/ADMA oranı düşük bulunmuştur. ADMA ve SDMA düzeyleri, obstrüktif hipertrofik kardiyomiyopati hastalarda obstrüktif olmayan gruba oranla daha yüksek düzeylerde seyretmektedir.<sup>116</sup>

Distrofin proteoglikan kompleksi kodlayan gendeki mutasyonların kardiyomiyopati ile sonuçlandığı bilinmektedir. Bu mutasyonla oluşturulan fare kardiyomiyopati modelinde, bölgesel doku ha-

sarı hastalığın karakteristiği olarak ön plana çıkmaktadır. Bu hasar bölgelerinde eNOS miktarında artış gözlenmiştir.<sup>117</sup>

## NİTRİK OKSİT İLE İLİŞKİLİ TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

### NİTRİK OKSİT VERİCİLERİ

Klinik kullanımı olan NO vericileri; gaz NO, NO solüsyonları, L-arjinin, S-nitrozotiyoller, inorganik nitrozo bileşikler, diazeniyumdiyolatlar, organik nitrat ve nitritler olarak sıralanabilir.<sup>118</sup>

Gaz NO, selektif pulmoner vazodilatör olması nedeni ile postnatal pulmoner dolaşıma adaptasyonda kolaylaştırıcı etki gösterebilmektedir.<sup>118</sup> Gaz NO solutulması yenidoğanların hipoksik solunum yetmezliği tedavisinde kullanılacak bir ilaç olarak ruhsatlanmıştır.<sup>119</sup>

Diazeniyumdiyolat, "NONOat" olarak bilinmekte olup, ilk olarak 1960 yılında Drago ve Paulik tarafından sentezlenmiştir. NONOat, DEA ve NO'dan oluşan bir DEA/NO bileşiğidir.<sup>120</sup> Diyolat grubu içeren nükleofil/NO bileşikleri (XN(O)N=O), kendiliğinden (enzimatik olmayan yoldan) NO salıvererek biyolojik etki gösterebilmektedir. Nükleofil grup olan X; primer amin, sekonder amin, poliamin, spermin, oksit ve sülfid grubu olabilmektedir. Nükleofil/NO bileşikleri, bileşikteki NO miktarıyla uyumlu olarak değişen vazodilatör özellik göstermektedir.<sup>121</sup> NONOat'ler endojen NO'ya benzer etkileri nedeni ile kardiyovasküler sistemi inceleyen deneysel modellerde sıklıkla kullanılmaktadır. Hayvan modellerinde DEA/NO bileşiğinin, sistemik ve pulmoner arteriyel basıncı doz bağımlı olarak azalttığı gösterilmiştir.<sup>122</sup> DEA/NO ve spermin (SPER)/NO trombosit agregasyonunu önlemekte,<sup>123</sup> ayrıca SPER/NO, dietilen triamin pentaasetik asit (DPTA)/NO ve dietilen triamin (DETA)/NO damar düz kası proliferasyonunu inhibe etmektedir. Bu da balon anjiyoplasti gibi kardiyovasküler cerrahi girişimler sonrası komplikasyonları önlemekte umut vaat etmektedir.<sup>124</sup> Ayrıca NONOat'ler uzun etki süresi, katı formda kararlı olması ve monitörizasyon gerektirmemesi açısından pulmoner hipertansiyon, astım gibi akciğer hastalıklarında gaz NO'ya üstün gibi gözükmektedir.<sup>125</sup>

S-nitrozotiyoller, bir tiyol ve bir NO grubundan oluşan bileşiklerdir. Bu bileşikler, endojen olarak oluşmaktadır. Bu nedenle doğal NO vericisi olarak kabul edilmektedir. Enzimatik olan ve olmayan yollarla yıkıldıklarında NO açığa çıkarmaktadır. Etkileri NONOat'ler gibi NO'ya bağlıdır. Trombosit aktivasyonunu engellemekte ve vasküler tonusu düzenlemektedir. S-nitrozotiyollerin fizyolojik şartlarda oluşan moleküller olması ve NONOat'ler ile in vivo çalışmaların yetersizliği nedeni ile, NONOat'lere kıyasla S-nitrozotiyoller çalışmalarda ön plana çıkmaktadır. Buna karşın NONOatlar'ın doğrudan NO vericisi olması ve S-nitrozotiyollerin indirgenme sonrası NO salıvermeleri nedeni ile NONOat kullanımının avantaj sağlayacağı durumlar olabilmektedir.<sup>126</sup>

L-arjinin, NO'yu meydana getiren aminoasit olması nedeni ile doğal NO vericisi olarak görülmekte ve NO'ya bağlı etkileri nedeni ile klinik çalışmalarda denetlenmektedir.<sup>118,127</sup> Ancak, koroner arter hastalarında L-arjinin uygulaması, plazma arjinin düzeylerini artırmış fakat endotelden NO salımını değiştirmemiştir.<sup>128</sup> İntrakoroner L-arjinin infüzyonu ne normal ne de spazma uğramış koroner arterlerde damar çapı üzerine etki gösterebilmiştir.<sup>94</sup> L-arjinin uygulamasıyla oluşacak etkinin sağlam bir endotel hücresi gerektirmesi nedeni ile, koroner arter hastalıklarında beklenen etkiyi göstermemesi beklenebilir. Organik erektil işlev bozukluğu olan erkek hastalara L-arjinin uygulandığında ise hastaların bir kısmında seksüel fonksiyonda iyileşme gözlenmiştir.<sup>118</sup> Diyabetli sıçanlarda da L-arjinin uygulaması, bozulmuş olan vasküler kasılma-gevşeme yanıtlarını düzeltmesi ve oksidatif stresi azaltması bakımından faydalı görülmektedir.<sup>129</sup>

Organik nitratlar genel olarak, organik bir taşıyıcıya bir ila dört nitrooksi grubunun eklenmesiyle oluşturulmuş ilaçlardır. Biyoaktivasyonla NO'ya dönüşmektedir.<sup>118</sup> Nitrogliserin ve sodyum nitroprussid, NO salıvermek suretiyle damar düz kası gevşemesine neden olan nitrovazodilatörlerdir. Nitrogliserin, koroner kan akımını artırdığı ve miyokardiyal oksijen tüketimini azalttığı için angina pectoris tedavisinde etkin olarak kullanılmaktadır. Sodyum nitroprussid, kalpte ön yük

(preload) ve ard yükü (afterload) azaltarak sistemik vazodilatasyona yol açması nedeni ile hipertansif krizde etkin olarak kullanılmaktadır. Fakat nitrogliserin gibi angina pectoris veya miyokardiyal iskemiye azaltmakta kullanılmamaktadır.<sup>130</sup>

### NİTRİK OKSİT HİBRİD İLAÇLAR

NO hibrid ilaçlar, mevcut bir ilaca NO salıveren moleküller eklenerek oluşturulur. Bu tip ilaçlar, ana ilacın etkisini artırmaları veya istenmeyen etkilerini azaltmaları nedeni ile ilgi çekmektedir. NO salıcı moleküller olarak çoğunlukla bir organik nitrat veya S-nitrozotiyol grubu tercih edilmektedir. Bu güne kadar NO-hibridi oluşturulan başlıca ilaç grubu nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) dir. Ancak NO-NSAİİ hibridleri henüz kullanıma girmemiş olup, prelinik çalışmalar sürdürülmektedir.<sup>118,131</sup> Daha az bilinen NO-hibridleri, intraoküler basıncı azaltmak amacıyla sentezlenen latanoprost-NO'dur. Latanoprostun göz içi basıncını azaltıcı etkisinin NO verici ile artması, diğer prostaglandin ya da prostamid-NO hibridlerini de gündeme getirmektedir.<sup>132</sup>

### NİTRİK OKSİT SENTAZ İNHİBİTÖRLERİ

eNOS'nin kardiyak açıdan faydalı etkileri ve eNOS'nin inhibisyonunun genel olarak kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde yer alması nedeni ile ilaç olarak kullanılabilen NOS inhibitörleri ile ilgili çalışmalar, nNOS ve/veya iNOS'yi inhibe ederken, eNOS üzerinde etki göstermeyecek yeni moleküller üzerine odaklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda nNOS kaynaklı NO aşırı üretiminin nörodejeneratif hastalıklarda rolü olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, inme sonrası oluşan nöron hasarında da rol oynadığı bilinmektedir. Bu sebeple nNOS'nin spesifik olarak inhibisyonu önemli bir terapötik hedef gibi gözükmemektedir. Patent almış birkaç nNOS inhibitörünün varlığı bilinmektedir.<sup>133</sup>

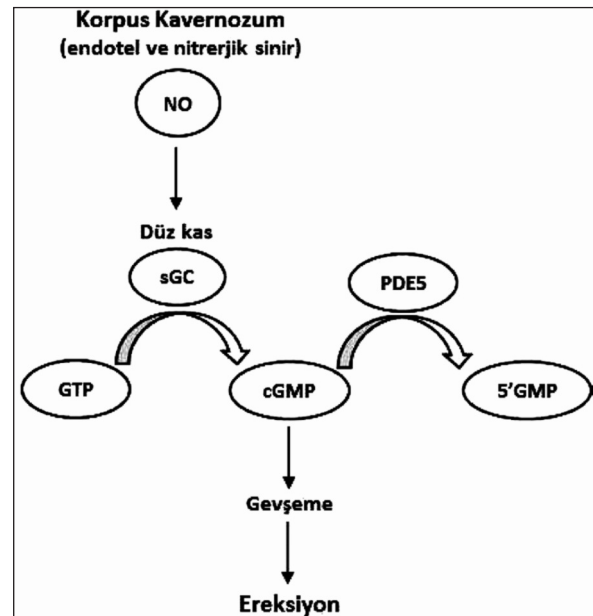
iNOS tarafından sentezlenen NO miktarı, yapısal NOS enzimlerinin sentezlediği NO miktarının çok üzerindedir. iNOS tarafından üretilen NO, her ne kadar tümör hücreleri ve mikroorganizmalara karşı savunmada faydalı etkilere sahip olsa da aşırı miktarda üretildiğinde inflamasyon, romatoid artrit, inme ve hatta kansere kadar varabilen birçok hastalığın patogenezinde yer almaktadır.<sup>13,14</sup>

Ayrıca sitotoksiste ve doku hasarına yol açmaktadır. iNOS selektif olan ve olmayan inhibitörler tasarlanmakta olup, iNOS'nin inhibisyonunu hedef alan birçok molekül patenti bulunmaktadır. Fakat yan etki profili ve düşük seçicilik bir problem olarak ön plana çıkmaktadır.<sup>133</sup>

### FOSFODİESTERAZ-5 İNHİBİTÖRLERİ

Ereksiyon, korpus kavernozum düz kasının NO uyarısıyla gevşemesi sonucu gerçekleşmektedir (Şekil 3). Bu uyarı sırasında NO hem korpus kavernozumun iç yüzeyini döşeyen endotel hücrelerinden hem de bu dokuyu inerve eden nitretrjik otonom sinir uçlarından salgılanmaktadır. Salgılanan NO'nun korpus kavernozum düz kasındaki hedefi sGC'dir ve hücre içinde cGMP artışıyla gevşemeye neden olmaktadır. Dokuda cGMP'nin yıkımından sorumlu olan enzimler fosfodiesteraz enzimleridir. İnsan korpus kavernozumunda PDE2, PDE3 ve PDE5 saptanmış olup; ana PDE aktivitesi PDE5'e bağlıdır.<sup>134</sup>

Eretil işlev bozukluğu bu sistemde yetersiz NO salıverilmesi nedeni ile ortaya çıkmaktadır. Eretil işlev bozukluğu tedavisinde PDE5'i inhibe etmek mantıklı bir yaklaşım olarak görünmektedir



ŞEKİL 3: Nitrik oksit ile ereksiyon mekanizması.

5'GMP: 5' guanozin monofosfat; cGMP: Siklik guanozin monofosfat; GTP: Guanozin trifosfat; NO: Nitrik oksit; PDE5: Fosfodiesteraz-5; sGC: Çözünbilir guanilat siklaz.

ve PDE5 inhibitörleri, erektil işlev bozukluğu tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Organik bir nedeni saptanmamış erektil işlev bozukluğu bulunan hastalarda yapılan klinik çalışmalarda, PDE5 seçici inhibitörü olan sildenafil ile erektil yanıtarda artış gözlenmiştir, fakat yan etkiler kullanımını kısıtlamaktadır.<sup>134</sup> Sildenafilin hipotansif etkisi belirgindir. Diğer bir PDE5 inhibitörü olan vardenafilin hipotansif etkisi sildenafilden daha fazladır. Özellikle ilk kullanımda, kardiyovasküler etkiler vardenafilde daha belirgindir.<sup>135</sup> PDE5 inhibitörleri, NO vericileri (izosorbid mononitrat ve gliseril trinitrat gibi) ya da alfa antagonistlerle birlikte kullanıldığında bu hipotansif etki daha da belirginleşmekte ve hayatı tehdit etmektedir.<sup>136</sup> Bu nedenle PDE5 inhibitörlerinin, nitratlar ve alfa antagonistlerle birlikte kullanımı kontrendikedir.<sup>137</sup> Yeni sayılabilecek PDE5 inhibitörü avanafil, erektsiyonu 10 dk içinde başlatabilmesi açısından ön plana çıkmaktadır. Sildenafil için bu süre 30 dk olarak bilinmektedir. Avanafil ayrıca PDE1, PDE6 ve PDE11'e yüksek oranda seçici olması nedeni ile, daha az yan etkiyle istenilen etki profiline ulaşmak açısından avantaj sağlamaktadır.<sup>138</sup>

Sildenafil, pulmoner vazodilatör etkileri nedeni ile pulmoner hipertansiyon tedavisinde de kullanılmaktadır. Sistemik yan etkilere neden olmadan pulmoner arter basıncını azaltabilmektedir. Çocuk ve erişkin hastalar için sildenafil, pulmoner hipertansiyonda klasik tedaviye alternatif olarak kullanılmaktadır. Pulmoner hipertansiyonun tedavisinde kullanılan inhale NO ve devamlı intravenöz (IV) prostasiklin infüzyonu gibi pahalı ve kullanımı zor tedavilere göre daha ucuz olması, daha az yan etki profiline sahip olması ve oral kullanım kolaylığı nedeni ile daha avantajlı görünmektedir.<sup>139</sup>

### ÇÖZÜNEBİLİR GUANİLAT SIKLAZ UYARICILARI VE ETKİNLEŞTİRİCİLERİ

sGC, Hem grubunda ferröz demir içeren bir enzimdir. NO, sGC'nin Hem demirine bağlanarak enzimi aktive etmektedir. Bu enzimin aktivitesi hücrenin redoks durumundan etkilenmektedir. Kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde yer alan serbest radikaller, demir içeren Hem grubunu okside ederek enzimi NO'ya duyarısızlaştırabilmektedir.

dir.<sup>26</sup> sGC için iki tip ilaç grubu geliştirilmeye çalışılmaktadır: Bunlar; sGC uyarıcıları (stimülatör) ve etkinleştiricileri (aktivatör) dir. Bunlardan sGC uyarıcıları sGC'nin Hem grubu üzerinden NO ile sinerjistik çalışır iken; sGC etkinleştiricileri Hem grubu okside olsa dahi çalışmakta, yani Hem grubundan bağımsız etki göstermekte ve NO'ya yanıt olmadığı durumlarda bile enzimi etkinleştirebilmektedir.<sup>140</sup>

sGC uyarıcıları ve etkinleştiricileri, NO'nun sGC uyarı yolundaki bozuklukların patogeneğinde ön planda yer alan hastalıkların tedavisi için geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu anlamda ilk geliştirilen sGC stimülatörü "riociguat" adlı bileşiktir. Pulmoner hipertansiyon için geliştirilmiş olan "riociguat", pulmoner hemodinami üzerine güçlü etkileriyle bilinen potent bir bileşiktir. Pulmoner hipertansiyon ve kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon tedavisi için ruhsatlanmıştır.<sup>119,141</sup>

### TARTIŞMA

NO; kalpte kasılma yanıtı, atım hızı ve damar tonusunun düzenlenmesinde önemli rolü olan bir moleküldür. NO aracılı uyarı iletimindeki bozukluk hipertansiyon, kalp yetersizliği, iskemik kalp hastalığı, koroner arter hastalığı ve aritmiler gibi pek çok kardiyovasküler hastalıkla ilişkilendirilmiştir. NO sistemi üzerinden etki gösteren ilaçların klinikteki başarısı, NO'nun bu hastalıklardaki rolünü doğrular niteliktedir. NO'nun kalp üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalarda birbirleriyle çelişir gibi görünen gözlemler ortaya çıkmıştır. Ancak; deneylerde kullanılan canlı türü, preparat (in vivo, tam kalp, kalbin farklı bölgeleri, doku, hücre), hedef dokudaki redoks dengesi ve NO derişiminin alınan yanıtları değiştirdiği açıktır. Bu farklılıktan sorumlu olan moleküler mekanizmaların bütün detayları ile aydınlatılmasının hem kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde NO'nun rolünün anlaşılmasına hem de NO sistemi üzerinden etki gösteren daha etkili ilaçların geliştirilmesine önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

### Çıkar Çatışması

*Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.*

## KAYNAKLAR

1. Yetik-Anacak G, Catravas JD. Nitric oxide and the endothelium: history and impact on cardiovascular disease. *Vascul Pharmacol* 2006;45(5):268-76.
2. Kayaalp SO. [Nitric oxide]. *Rasyonel Tedavi Yönlünden Tıbbi Farmakoloji*. 13. Baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitabevi; 2012. p.1322-5.
3. Tennyson AG, Lippard SJ. Generation, translocation, and action of nitric oxide in living systems. *Chem Biol* 2011;18(10):1211-20.
4. Jelliffe RW. Dilator and constrictor effects of acetylcholine on isolated rabbit aortic chains. *J Pharmacol Exp Ther* 1962;135(3):349-53.
5. Gruetter CA, Barry BK, McNamara DB, Gruetter DY, Kadowitz PJ, Ignarro L. Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosoamine. *J Cyclic Nucleotide Res* 1979;5(3):211-24.
6. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288(5789):373-6.
7. Furchgott RF, Cherry PD, Zawadzki JV, Jothianandan D. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984;6(Suppl 2):S336-43.
8. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327(6122):524-6.
9. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84(24):9265-9.
10. Koshland DE Jr. The molecule of the year. *Science* 1992;258(5090):1861.
11. SoRelle R. Nobel prize awarded to scientists for nitric oxide discoveries. *Circulation* 1998;98(22):2365-6.
12. Wimalawansa SJ. Nitric oxide: new evidence for novel therapeutic indications. *Expert Opin Pharmacother* 2008;9(11):1935-54.
13. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001;357(Pt 3):593-615.
14. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J* 2012;33(7):829-37.
15. Ricciardolo FL. Multiple roles of nitric oxide in the airways. *Thorax* 2003;58(2):175-82.
16. Schulz R, Rassaf T, Massion PB, Kelm M, Balligand JL. Recent advances in the understanding of the role of nitric oxide in cardiovascular homeostasis. *Pharmacol Ther* 2005;108(3):225-56.
17. Zweier JL, Wang P, Samouilov A, Kuppusamy P. Enzyme-independent formation of nitric oxide in biological tissues. *Nat Med* 1995;1(8):804-9.
18. Lundberg JO, Weitzberg E, Cole JA, Benjamin N. Nitrate, bacteria and human health. *Nat Rev Microbiol* 2004;2(7):593-602.
19. Förstermann U. Properties and mechanisms of production and action of endothelium-derived relaxing factor. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986;8(Suppl 10):45-51.
20. Malinski T. The vital role of nitric oxide. *Oakland J* 2000;1:47-57.
21. Yoshida K, Kasama K. Biotransformation of nitric oxide. *Environ Health Perspect* 1987;73:201-5.
22. Thomas DD, Ridnour LA, Isenberg JS, Flores-Santana W, Switzer CH, Donzelli S, et al. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. *Free Radic Biol Med* 2008;45(1):18-31.
23. Ischiropoulos H, Gow A. Pathophysiological functions of nitric oxide-mediated protein modifications. *Toxicology* 2005;208(2):299-303.
24. Martínez-Ruiz A, Lamas S. S-nitrosylation: a potential new paradigm in signal transduction. *Cardiovasc Res* 2004;62(1):43-52.
25. Poulos TL. Soluble guanylate cyclase. *Curr Opin Struct Biol* 2006;16(6):736-43.
26. Lima B, Forrester MT, Hess DT, Stamler JS. S-nitrosylation in cardiovascular signaling. *Circ Res* 2010;106(4):633-46.
27. Takimoto E. Cyclic GMP-dependent signaling in cardiac myocytes. *Circ J* 2012;76(8):1819-25.
28. Lohmann SM, Fischmeister R, Walter U. Signal transduction by cGMP in heart. *Basic Res Cardiol* 1991;86(6):503-14.
29. Biel M. Cyclic nucleotide-regulated cation channels. *J Biol Chem* 2009;284(14):9017-21.
30. Kass DA, Takimoto E, Nagayama T, Champion HC. Phosphodiesterase regulation of nitric oxide signaling. *Cardiovasc Res* 2007;75(2):303-14.
31. Zaccolo M, Movsesian MA. cAMP and cGMP signaling cross-talk: role of phosphodiesterases and implications for cardiac pathophysiology. *Circ Res* 2007;100(11):1569-78.
32. Murphy E, Kohr M, Menazza S, Nguyen T, Evangelista A, Sun J, et al. Signaling by S-nitrosylation in the heart. *J Mol Cell Cardiol* 2014;73:18-25.
33. Zhang M, Shah AM. ROS signalling between endothelial cells and cardiac cells. *Cardiovasc Res* 2014;102(2):249-57.
34. Afanas'ev I. ROS and RNS signaling in heart disorders: could antioxidant treatment be successful? *Oxid Med Cell Longev* 2011;2011:293769.
35. Seddon M, Shah AM, Casadei B. Cardiomyocytes as effectors of nitric oxide signalling. *Cardiovasc Res* 2007;75(2):315-26.
36. Sarkar D, Vallance P, Harding SE. Nitric oxide: not just a negative inotrope. *Eur J Heart Fail* 2001;3(5):527-34.
37. Flesch M, Kilter H, Cremers B, Lenz O, Südkamp M, Kuhn-Regnier F, et al. Acute effects of nitric oxide and cyclic GMP on human myocardial contractility. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;281(3):1340-9.
38. Müller-Strahl G, Kottenberg K, Zimmer HG, Noack E, Kojda G. Inhibition of nitric oxide synthase augments the positive inotropic effect of nitric oxide donors in the rat heart. *J Physiol* 2000;522(Pt 2):311-20.
39. Kennedy RH, Hicks KK, Brian JE Jr, Seifen E. Nitric oxide has no chronotropic effect in right atria isolated from rat heart. *Eur J Pharmacol* 1994;255(1-3):149-56.
40. Wyeth RP, Temma K, Seifen E, Kennedy RH. Negative inotropic actions of nitric oxide require high doses in rat cardiac muscle. *Pflugers Arch* 1996;432(4):678-84.
41. Shah AM, MacCarthy PA. Paracrine and autocrine effects of nitric oxide on myocardial function. *Pharmacol Ther* 2000;86(1):49-86.
42. Rastaldo R, Pagliaro P, Cappello S, Penna C, Mancardi D, Westerhof N, et al. Nitric oxide and cardiac function. *Life Sci* 2007;81(10):779-93.
43. Gallo MP, Malan D, Bedendi I, Biasin C, Aloia G, Levi RC. Regulation of cardiac calcium current by NO and cGMP-modulating agents. *Pflugers Arch* 2001;441(5):621-8.
44. Worthley MI, Horowitz JD, Zeitz CJ. Lack of inotropic effect of nitric oxide on the rat myocardium. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005;32(7):526-30.
45. Barouch LA, Harrison RW, Skaf MW, Rosas GO, Cappola TP, Kobeissi ZA, et al. Nitric oxide regulates the heart by spatial confinement of nitric oxide synthase isoforms. *Nature* 2002;416(6878):337-9.
46. Zaobornyj T, Ghafourifar P. Strategic localization of heart mitochondrial NOS: a review of the evidence. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012;303(11):H1283-93.
47. Zhang YH, Zhang MH, Sears CE, Emanuel K, Redwood C, El-Armouche A, et al. Reduced phospholamban phosphorylation is associated with impaired relaxation in left ventricular myocytes from neuronal NO synthase-deficient mice. *Circ Res* 2008;102(2):242-9.



48. Martin SR, Emanuel K, Sears CE, Zhang YH, Casadei B. Are myocardial eNOS and nNOS involved in the beta-adrenergic and muscarinic regulation of inotropy? A systematic investigation. *Cardiovasc Res* 2006;70(1):97-106.
49. Kojda G, Kottenberg K. Regulation of basal myocardial function by NO. *Cardiovasc Res* 1999;41(3):514-23.
50. Mohan P, Brutsaert DL, Paulus WJ, Sys SU. Myocardial contractile response to nitric oxide and cGMP. *Circulation* 1996;93(6):1223-9.
51. Brady AJ, Warren JB, Poole-Wilson PA, Williams TJ, Harding SE. Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction. *Am J Physiol* 1993;265(1 Pt 2):H176-82.
52. Kojda G, Kottenberg K, Nix P, Schlüter KD, Piper HM, Noack E. Low increase in cGMP induced by organic nitrates and nitrovasodilators improves contractile response of rat ventricular myocytes. *Circ Res* 1996;78(1):91-101.
53. Massion PB, Feron O, Dessy C, Balligand JL. Nitric oxide and cardiac function: ten years after, and continuing. *Circ Res* 2003;93(5):388-98.
54. Massion PB, Pelat M, Belge C, Balligand JL. Regulation of the mammalian heart function by nitric oxide. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2005;142(2):144-50.
55. Damy T, Ratajczak P, Shah AM, Camors E, Marty I, Hasenfuss G, et al. Increased neuronal nitric oxide synthase-derived NO production in the failing human heart. *Lancet* 2004;363(9418):1365-7.
56. Damy T, Ratajczak P, Ribidel E, Bendall JK, Oliviero P, Boczkowski J, et al. Up-regulation of cardiac nitric oxide synthase 1-derived nitric oxide after myocardial infarction in senescent rats. *FASEB J* 2003;17(13):1934-6.
57. Casadei B. The emerging role of neuronal nitric oxide synthase in the regulation of myocardial function. *Exp Physiol* 2006;91(6):943-55.
58. Fischmeister R, Castro L, Abi-Gerges A, Rochais F, Vandecasteele G. Species- and tissue-dependent effects of NO and cyclic GMP on cardiac ion channels. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2005;142(2):136-43.
59. Vila-Petroff MG, Younes A, Egan J, Lakatta EG, Sollott SJ. Activation of distinct cAMP-dependent and cGMP-dependent pathways by nitric oxide in cardiac myocytes. *Circ Res* 1999;84(9):1020-31.
60. Schmitz W, von der Leyen H, Meyer W, Neumann J, Scholz H. Phosphodiesterase inhibition and positive inotropic effects. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;(14 Suppl 3):11-4.
61. Langer M, Lüttecke D, Schlüter KD. Mechanism of the positive contractile effect of nitric oxide on rat ventricular cardiomyocytes with positive force/frequency relationship. *Pflügers Arch* 2003;447(3):289-97.
62. Derici K, Samsar U, Demirel-Yilmaz E. Nitric oxide effects depend on different mechanisms in different regions of the rat heart. *Heart Vessels* 2012;27(1):89-97.
63. Pang DC. Tissue and species specificity of cardiac cAMP-phosphodiesterase inhibitors. *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res* 1992;25:307-20.
64. Klein C. Nitric oxide and the other cyclic nucleotide. *Cell Signal* 2002;14(6):493-8.
65. Demirel-Yilmaz E, Cenik B, Ozcan G, Derici MK. Various phosphodiesterase activities in different regions of the heart alter the cardiac effects of nitric oxide. *J Cardiovasc Pharmacol* 2012;60(3):283-92.
66. Chowdhary S, Harrington D, Bonser RS, Coote JH, Townend JN. Chronotropic effects of nitric oxide in the denervated human heart. *J Physiol* 2002;541(Pt 2):645-51.
67. Ravens U, Wettwer E. Electrophysiological aspects of changes in heart rate. *Basic Res Cardiol* 1998;(93 Suppl 1):60-5.
68. Shattock MJ, Rosen MR. The control of heart rate: the physiology of the sinoatrial node and the role of the If current. *Dialogues Cardiovasc Med* 2006;11(1):5-17.
69. Musialek P, Rigg L, Terrar DA, Paterson DJ, Casadei B. Role of cGMP-inhibited phosphodiesterase and sarcoplasmic calcium in mediating the increase in basal heart rate with nitric oxide donors. *J Mol Cell Cardiol* 2000;32(10):1831-40.
70. Nishikawa Y, Ogawa S. Importance of nitric oxide in the coronary artery at rest and during pacing in humans. *J Am Coll Cardiol* 1997;29(1):85-92.
71. Tsoukias NM. Nitric oxide bioavailability in the microcirculation: insights from mathematical models. *Microcirculation* 2008;15(8):813-34.
72. Paniagua OA, Bryant MB, Panza JA. Role of endothelial nitric oxide in shear stress-induced vasodilation of human microvasculature: diminished activity in hypertensive and hypercholesterolemic patients. *Circulation* 2001;103(13):1752-8.
73. Kelm M, Schrader J. Control of coronary vascular tone by nitric oxide. *Circ Res* 1990;66(6):1561-75.
74. Levy AS, Chung JC, Kroetsch JT, Rush JW. Nitric oxide and coronary vascular endothelium adaptations in hypertension. *Vasc Health Risk Manag* 2009;5:1075-87.
75. Ingram DG, Newcomer SC, Price EM, Eklund KE, McAllister RM, Laughlin MH. Chronic nitric oxide synthase inhibition blunts endothelium-dependent function of conduit coronary arteries, not arterioles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;292(6):H2798-808.
76. Amezcua JL, Palmer RM, de Souza BM, Moncada S. Nitric oxide synthesized from L-arginine regulates vascular tone in the coronary circulation of the rabbit. *Br J Pharmacol* 1989;97(4):1119-24.
77. Levi R, Gross SS, Lamparter B, Fasehun OA, Aisaka K, Jaffe EA, et al. Evidence that L-arginine is the biosynthetic precursor of vascular and cardiac nitric oxide. In: Moncada S, Higgs EA, eds. *Nitric Oxide From L-Arginine: a Bioregulatory System*. 1<sup>st</sup> ed. Amsterdam: Excerpta Medica; 1990. p.35-45.
78. Zhao X, Lu X, Feng Q. Deficiency in endothelial nitric oxide synthase impairs myocardial angiogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283(6):H2371-8.
79. Moncada S, Higgs EA. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *Br J Pharmacol* 2006;(147 Suppl 1):S193-201.
80. Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA. Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation* 1993;87(5):1468-74.
81. Lüscher TF, Diederich D, Weber E, Vanhoutte PM, Bühler FR. Endothelium-dependent responses in carotid and renal arteries of normotensive and hypertensive rats. *Hypertension* 1988;11(6 Pt 2):573-8.
82. Bhatt SR, Lokhandwala MF, Banday AA. Resveratrol prevents endothelial nitric oxide synthase uncoupling and attenuates development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 2011;667(1-3):258-64.
83. Han S, Uludag MO, Usanmaz SE, Ayaloglu-Butun F, Akcali KC, Demirel-Yilmaz E. Resveratrol affects histone 3 lysine 27 methylation of vessels and blood biomarkers in DOCA salt-induced hypertension. *Mol Biol Rep* 2015;42(1):35-42.
84. Rees DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86(9):3375-8.
85. Baylis C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest* 1992;90(1):278-81.
86. Cotton JM, Kearney MT, MacCarthy PA, Grotcott-Mason RM, McClean DR, Heymes C, et al. Effects of nitric oxide synthase inhibition on Basal function and the force-frequency relationship in the normal and failing human heart in vivo. *Circulation* 2001;104(19):2318-23.
87. Mohri M, Egashira K, Tagawa T, Kuga T, Tagawa H, Harasawa Y, et al. Basal release of nitric oxide is decreased in the coronary circulation inpatients with heart failure. *Hypertension* 1997;30(1 Pt 1):50-6.

88. Drexler H, Kästner S, Strobel A, Studer R, Brodde OE, Hasenfuss G. Expression, activity and functional significance of inducible nitric oxide synthase in the failing human heart. *J Am Coll Cardiol* 1998;32(4):955-63.
89. Fukuchi M, Hussain SN, Giaid A. Heterogeneous expression and activity of endothelial and inducible nitric oxide synthases in end-stage human heart failure: their relation to lesion site and beta-adrenergic receptor therapy. *Circulation* 1998;98(2):132-9.
90. Krenek P, Kmecova J, Kucerova D, Bajuszova Z, Musil P, Gazova A, et al. Isoproterenol-induced heart failure in the rat is associated with nitric oxide-dependent functional alterations of cardiac function. *Eur J Heart Fail* 2009;11(2):140-6.
91. Funakoshi H, Kubota T, Kawamura N, Machida Y, Feldman AM, Tsutsui H, et al. Disruption of inducible nitric oxide synthase improves beta-adrenergic inotropic responsiveness but not the survival of mice with cytokine-induced cardiomyopathy. *Circ Res* 2002;90(9):959-65.
92. Akarasereenont P, Nuamchit T, Thaworn A, Leowattana W, Chotewuttakorn S, Khunawat P. Serum nitric oxide levels in patients with coronary artery disease. *J Med Assoc Thai* 2001;(84 Suppl 3):S730-9.
93. Soydinc S, Celik A, Demiryurek S, Davutoglu V. The relationship between oxidative stress, nitric oxide, and coronary artery disease. *Eur J Gen Med* 2007;4(2):62-6.
94. Kugiyama K, Yasue H, Okumura K, Ogawa H, Fujimoto K, Nakao K, et al. Nitric oxide activity is deficient in spasm arteries of patients with coronary spastic angina. *Circulation* 1996;94(3):266-71.
95. Erdmann J, Stark K, Esslinger UB, Rumpf PM, Koesling D, de Wit C, et al. Dysfunctional nitric oxide signalling increases risk of myocardial infarction. *Nature* 2013;504(7480):432-6.
96. Nakata S, Tsutsui M, Shimokawa H, Suda O, Morishita T, Shibata K, et al. Spontaneous myocardial infarction in mice lacking all nitric oxide synthase isoforms. *Circulation* 2008;117(17):2211-23.
97. Wildhirt SM, Weismueller S, Schulze C, Conrad N, Kornberg A, Reichart B. Inducible nitric oxide synthase activation after ischemia/reperfusion contributes to myocardial dysfunction and extent of infarct size in rabbits: evidence for a late phase of nitric oxide-mediated reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1999;43(3):698-711.
98. Vegh A, Szekeres L, Parratt J. Preconditioning of the ischaemic myocardium; involvement of the L-arginine nitric oxide pathway. *Br J Pharmacol* 1992;107(3):648-52.
99. Kaeffer N, Richard V, François A, Lallemand F, Henry JP, Thuillez C. Preconditioning prevents chronic reperfusion-induced coronary endothelial dysfunction in rats. *Am J Physiol* 1996;271(3 Pt 2):H842-9.
100. Wainwright CL, Martorana PA. Pirsidomine, a novel nitric oxide donor, suppresses ischemic arrhythmias in anesthetized pigs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;(22 Suppl 7):S44-50.
101. Barnes CS, Coker SJ. Failure of nitric oxide donors to alter arrhythmias induced by acute myocardial ischaemia or reperfusion in anaesthetized rats. *Br J Pharmacol* 1995;114(2):349-56.
102. Sun W, Wainwright CL. The role of nitric oxide in modulating ischaemia-induced arrhythmias in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997;29(4):554-62.
103. Pabla R, Curtis MJ. Effects of NO modulation on cardiac arrhythmias in the rat isolated heart. *Circ Res* 1995;77(5):984-92.
104. Burkard N, Williams T, Czolbe M, Blömer N, Panther F, Link M, et al. Conditional overexpression of neuronal nitric oxide synthase is cardioprotective in ischemia/reperfusion. *Circulation* 2010;122(16):1588-603.
105. Carnicer R, Crabtree MJ, Sivakumaran V, Casadei B, Kass DA. Nitric oxide synthases in heart failure. *Antioxid Redox Signal* 2013;18(9):1078-99.
106. Reilly SN, Jayaram R, Nahar K, Antoniadou C, Verheule S, Channon KM, et al. Atrial sources of reactive oxygen species vary with the duration and substrate of atrial fibrillation: implications for the antiarrhythmic effect of statins. *Circulation* 2011;124(10):1107-17.
107. Antoniadou C, Demosthenous M, Reilly S, Margaritis M, Zhang MH, Antonopoulos A, et al. Myocardial redox state predicts in-hospital clinical outcome after cardiac surgery effects of short-term pre-operative statin treatment. *J Am Coll Cardiol* 2012;59(1):60-70.
108. Minamino T, Kitakaze M, Sato H, Asanuma H, Funaya H, Koretsune Y, et al. Plasma levels of nitrite/nitrate and platelet cGMP levels are decreased in patients with atrial fibrillation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(11):3191-5.
109. Cai H, Li Z, Goette A, Mera F, Honeycutt C, Feterik K, et al. Downregulation of endocardial nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in atrial fibrillation: potential mechanisms for atrial thrombosis and stroke. *Circulation* 2002;106(22):2854-8.
110. Lowenstein CJ, Hill SL, Lafond-Walker A, Wu J, Allen G, Landavere M, et al. Nitric oxide inhibits viral replication in murine myocarditis. *J Clin Invest* 1996;97(8):1837-43.
111. Ishiyama S, Hiroe M, Nishikawa T, Abe S, Shimajo T, Ito H, et al. Nitric oxide contributes to the progression of myocardial damage in experimental autoimmune myocarditis in rats. *Circulation* 1997;95(2):489-96.
112. Shin T, Cho S, Lee C. Detection of inducible nitric oxide synthase- and nitrotyrosine-positive cells in the lesions of pericarditis induced by porcine enterovirus serotype 3 infection. *J Vet Med Sci* 2001;63(9):1017-9.
113. Shin T, Tanuma N, Kim S, Jin J, Moon C, Kim K, et al. An inhibitor of inducible nitric oxide synthase ameliorates experimental autoimmune myocarditis in Lewis rats. *J Neuroimmunol* 1998;92(1-2):133-8.
114. Habib FM, Springall DR, Davies GJ, Oakley CM, Yacoub MH, Polak JM. Tumour necrosis factor and inducible nitric oxide synthase in dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1996;347(9009):1151-5.
115. de Belder AJ, Radomski MW, Why HJ, Richardson PJ, Martin JF. Myocardial calcium-independent nitric oxide synthase activity is present in dilated cardiomyopathy, myocarditis, and postpartum cardiomyopathy but not in ischaemic or valvular heart disease. *Br Heart J* 1995;74(4):426-30.
116. Dimitrow PP, Undas A, Bober M, Tracz W, Dubiel JS. Plasma biomarkers of endothelial dysfunction in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Pharmacol Rep* 2007;59(6):715-20.
117. Heydemann A, Huber JM, Kakkar R, Wheeler MT, McNally EM. Functional nitric oxide synthase mislocalization in cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 2004;36(2):213-23.
118. Lehmann J. Nitric oxide donors - current trends in therapeutic applications. *Expert Opin Ther Pat* 2000;10(5):559-74.
119. DiBlasi RM, Myers TR, Hess DR. Evidence-based clinical practice guideline: inhaled nitric oxide for neonates with acute hypoxic respiratory failure. *Respir Care* 2010;55(12):1717-45.
120. Drago RS, Paulik FE. The reaction of nitrogen(II) oxide with diethylamine. *J Am Chem Soc* 1960;82(1):96-8.
121. Maragos CM, Morley D, Wink DA, Dunams TM, Saavedra JE, Hoffman A, et al. Complexes of NO with nucleophiles as agents for the controlled biological release of nitric oxide. Vasorelaxant effects. *J Med Chem* 1991;34(11):3242-7.
122. Vanderford PA, Wong J, Chang R, Keefer LK, Soifer SJ, Fineman JR. Diethylamine/nitric oxide (NO) adduct, an NO donor, produces potent pulmonary and systemic vasodilation in intact newborn lambs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;23(1):113-9.
123. Diodati JG, Quyyumi AA, Hussain N, Keefer LK. Complexes of nitric oxide with nucleophiles as agents for the controlled biological release of nitric oxide: antiplatelet effect. *Thromb Haemost* 1993;70(4):654-8.
124. Mooradian DL, Hutsell TC, Keefer LK. Nitric oxide (NO) donor molecules: effect of NO release rate on vascular smooth muscle cell proliferation in vitro. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;25(4):674-8.

125. Lam CF, Sviri S, Ilett KF, van Heerden PV. Inhaled diazeniumdiolates (NONOates) as selective pulmonary vasodilators. *Expert Opin Investig Drugs* 2002;11(7):897-909.
126. Richardson G, Benjamin N. Potential therapeutic uses for S-nitrosothiols. *Clin Sci (Lond)* 2002;102(1):99-105.
127. Cylwik D, Mogielnicki A, Buczko W. L-arginine and cardiovascular system. *Pharmacol Rep* 2005;57(1):14-22.
128. Blum A, Hathaway L, Mincemoyer R, Schenke WH, Kirby M, Csako G, et al. Oral L-arginine in patients with coronary artery disease on medical management. *Circulation* 2000;101(18):2160-4.
129. Özçelikay AT, Tay A, Güner S, Taşyaran V, Yıldizoğlu-Ari N, Dinçer UD, et al. Reversal effects of L-arginine treatment on blood pressure and vascular responsiveness of streptozotocin-diabetic rats. *Pharmacol Res* 2000;41(2):201-9.
130. Gold ME. Pharmacology of the nitrovasodilators. Antianginal, antihypertensive, and antiplatelet actions. *Nurs Clin North Am* 1991;26(2):437-50.
131. Lundberg JO, Gladwin MT, Weitzberg E. Strategies to increase nitric oxide signalling in cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov* 2015;14(9):623-41.
132. Orihashi M, Shima Y, Tsuneki H, Kimura I. Potent reduction of intraocular pressure by nipradilol plus latanoprost in ocular hypertensive rabbits. *Biol Pharm Bull* 2005;28(1):65-8.
133. Joubert J, Malan SF. Novel nitric oxide synthase inhibitors: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2011;21(4):537-60.
134. Boolell M, Allen MJ, Ballard SA, Gepi-Attee S, Muirhead GJ, Naylor AM, et al. Sildenafil: an orally active type 5 cyclic GMP-specific phosphodiesterase inhibitor for the treatment of penile erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 1996;8(2):47-52.
135. Pomara G, Morelli G, Pomara S, Taddei S, Ghiadoni L, Dinelli N, et al. Cardiovascular parameter changes in patients with erectile dysfunction using pde-5 inhibitors: a study with sildenafil and vardenafil. *J Androl* 2004;25(4):625-9.
136. Webb DJ, Muirhead GJ, Wulff M, Sutton JA, Levi R, Dinsmore WW. Sildenafil citrate potentiates the hypotensive effects of nitric oxide donor drugs in male patients with stable angina. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(1):25-31.
137. Kloner RA, Hutter AM, Emmick JT, Mitchell MI, Denne J, Jackson G. Time course of the interaction between tadalafil and nitrates. *J Am Coll Cardiol* 2003;42(10):1855-60.
138. Kotera J, Mochida H, Inoue H, Noto T, Fujishige K, Sasaki T, et al. Avanafil, a potent and highly selective phosphodiesterase-5 inhibitor for erectile dysfunction. *J Urol* 2012;188(2):668-74.
139. Barnett CF, Machado RF. Sildenafil in the treatment of pulmonary hypertension. *Vasc Health Risk Manag* 2006;2(4):411-22.
140. Stasch JP, Pacher P, Evgenov OV. Soluble guanylate cyclase as an emerging therapeutic target in cardiopulmonary disease. *Circulation* 2011;123(20):2263-73.
141. Mittendorf J, Weigand S, Alonso-Alija C, Bischoff E, Feurer A, Gerisch M, et al. Discovery of riociguat (BAY 63-2521): a potent, oral stimulator of soluble guanylate cyclase for the treatment of pulmonary hypertension. *ChemMedChem* 2009;4(5):853-65.