

Yazının ilişkili olduğu tıp disiplini: Vasküler Hastalıklar

COX-1 Enzimi ve Endotel Disfonksiyon Arasındaki İlişki (The Relationship Between COX-1 Enzyme and Endothelial Dysfunction)

Özlem Timirci-Kahraman¹, Özlem Küçük Hüseyin¹, Bahar Toptaş¹, Turgay İsbir²

¹ İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı

² Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Siklooksijenazın (COX) araşidonik asit metabolizmasındaki büyük rolünün keşfinden beri vasküler biyologlar bu sistemin ikili fonksiyon özelliği ile karşı karşıya kalmışlardır. Gerçekten de, bir enzim (COX) tarafından dönüştürülen substrat (araşidonik asit), başlangıçta dokuya özgü olduğu inanılan bir dizi özel sentez tarafından daha kararlı prostanoidlere metabolize edilmeden önce, sadece çok kısa bir süre varolan son ürünler (endoperoksitler) üretirler. Örneğin trombositler temel olarak, tromboksan A₂ (proagregan ve vazokonstriktör madde) üreten sentaz içerirlerken, endotelial hücreler temel olarak prostasiklin (antiagregan ve vazodilatör madde) oluşturan enzim içermektedirler. Trombositler tarafından tromboksan A₂'nin aşırı üretilmesi tromboza yol açmakta; ters etki olarak da endotelial hücrelerden prostasiklin üretilmesi vasküler tıkanmaya karşı koymaktadır. Araşidonik asit metabolizmasının bu ikili fonksiyon özelliği, yıllar boyunca aterotromboz hakkındaki düşüncelere ve çalışmalara yoğunlaşmayı sağlamıştır. Bu çalışmalardan yola çıkarak derlemede, siklooksijenaz enzimi ve endotel disfonksiyonu arasındaki ilişki tartışılacaktır.

ABSTRACT

Since the discovery of the central role of cyclooxygenase (COX) in the metabolism of arachidonic acid, vascular biologists have been exposed with the duality of this system. Essentially, one substrate (arachidonic acid) converted by one enzyme (COX) yields end products (endoperoxides) that obtain only very briefly before being metabolized to more stable prostanoids by a group of specific synthases that were primarily believed to be tissue specific. For example, thrombocytes include mainly the synthase that produces thromboxane A₂ (proaggregatory and vasoconstrictor substance), though endothelial cells contain mainly the enzyme that produces prostacyclin (antiaggregatory and vasodilator substance). The overproduction of thromboxane A₂ by thrombocytes induces to thrombosis. Endothelial cells lean against vascular occlusion by producing prostacyclin. This duality of the metabolism of arachidonic acid has ruled over our thinking about atherothrombosis for decades. Based on the review of these studies, we will discuss association between cyclooxygenase enzyme and endothelial dysfunction.

GENEL BİLGİ

Siklooksijenazlar, araşidonik asitin prostanoidlere ve diğer eikosanoidlere dönüşümünü katalizleyen enzimlerdir (1). Yapılan bilimsel çalışmalar ile birlikte siklooksijenazın COX-1 ve COX-2 adlı iki izoformunun olduğu ortaya çıkmıştır (1-3). COX-1'in başlangıçta pozitif etkili konstitütif izoform olduğu düşünülürken, COX-2'nin ağırlıklı olarak inflamatuvar yanıtlarda yer alan negatif etkili bir enzim olduğu düşünülmüştür (3). Bununla birlikte, yakın zamanlarda yapılan çalışmalarla, COX-2 inhibitörlerinin yaygın kullanımından kaynaklanan kardiyovasküler hastalıklar için artmış risk bulunması ile COX-2 ürünlerinin koruyucu rol oynadıkları ve bu izoformun aslında çok da negatif olarak değerlendirilemeyeceği önerilmiştir. Benzer şekilde, araşidonik asit metabolizmasının COX-1 tarafından başlatılmasının, vasküler koruma açısından aslında çok da pozitif bir rolünün olmadığı konusunda kanıtlar ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar, endotelial COX-1'in vasküler işlev bozukluğuna muhtemel katkılarına odaklanılması gerekliliğini ortaya koymuştur (4,5). Robert Furchgott devrim niteliğindeki çalışması ile endotel bozulmasının, in vitro ortamda asetilkoline maruz kalan izole arterlerin gevşemesini ortadan kaldırdığını ispatlamıştır (6). Bu gözlem, vasküler fonksiyonun lokal kontrolüne dair düşüncelerimize ufuk oluşturmuştur. Bir biyo-belirleme yaklaşımı kullanarak, endotelial hücrelerde endotelden türemiş gevşeme faktörü olarak adlandırdığı güçlü vazoaaktif bir madde salgılandığını göstermiş ve bir kaç yıl sonra, endotelden türemiş gevşeme faktörünün nitrik oksit (NO) olduğunu önce önermiş ve daha sonra da ispatlamıştır (7-9). Nitrik oksit, endotele-bağlı vazomotor değişikliklere yol açan tek mekanizma değildir; vasküler düz kasın NO-bağımsız hiperpolarizasyonuna yol açan birkaç endotelden türemiş faktör ve sinyal daha bulunmaktadır (10,11). Ayrıca, belli durumlarda endotelial hücreler vazokonstriktör maddeler (endotelden türemiş kontraksiyon faktörleri (EDCF)) salgırlar (12-14). Endotelin NO salma kabiliyeti azaldığında ve özellikle EDCF'nin salınım kabiliyeti arttırıldığında "*Endotel Disfonksiyon*" meydana gelmektedir. Bu durum, ateroskleroz ve koroner hastalıklara yol açan olaylar zincirindeki ilk adımdır (14-16). Endotele-bağlı kontraksiyonlar, selektif olmayan siklooksijenaz (COX) tarafından önlenerek, bu enzimin doğal

süreç içerisindeki önemli rolüne örnek oluşturmaktadır. Biyoanaliz çalışmaları, ilgili vazokonstriktör prostanoitlerin endotelial COX tarafından üretildiğini ispatlamaktadır. Endotele-bağlı kontraksiyonlar, özellikle tromboksan-prostanoid (TP) reseptörlerinin antagonistleri tarafından engellenmektedir. İlgili TP reseptörlerinin vasküler düz kaslara ait olduğu da bilinmektedir (17). COX-1 ve COX-2'nin öncelikli ve selektif inhibitörlerini kullanarak spontan hipertansif farelerin (SHR) arterlerinde yapılan çalışmalar, enzimin konstitütif izoformunun endotele-bağlı kontraksiyonlarda kilit rol oynadığını önermektedir. COX-1'in ekspresyonu, normal tansiyona sahip Wistar-Kyoto (WKY) farelerin kan damarları ile karşılaştırıldığında, SHR'nin aortasında ve özellikle endotelial hücrelerinde artmış olarak gözlemlenmiştir. Endotele-bağlı kontraksiyonlar ayrıca doğal tip fare aortasındaki asetilkolin ve kalsiyum iyonoforu (A23187) tarafından da harekete geçirilebilmektedir. Bu yanıtlar COX-2'si knockout edilmiş farede mevcut fakat COX-1'i knockout edilmiş hayvanlarda mevcut değildir. Bu bulgular, COX-1'in EDCF'nin ana kaynağı olduğu sonucuna varmamızı sağlamaktadır (18-22). Ayrıca COX'lar araşidonik asidi endoperoksitlere metabolize etmektedirler. Endotele-bağlı kontraksiyonlar sırasında salındıkları ve vasküler düz kaslardaki TP reseptörlerini aktive ettikleri düşünüldüğünde endoperoksitler gerçekten de "EDCF" olarak kabul edilebilirler (23,24).

Yapılan çalışmalarla endotele-bağlı kontraksiyonlar, yaşlı hayvanların arterlerinde daha belirgin olarak ortaya konulmuş ve COX veya TP-reseptör antagonistlerinin inhibitörlerinin, normal bir endotele-bağlı yanıtı sağladığı gösterilmiştir. Prostatiklin sentaz geninin ekspresyonunun yaş ile birlikte artmakta olduğu fakat prostatiklinin yaşlanan hayvanların arterlerindeki gevşemeyi yerine getiremediği belirlenmiştir (14,17,23). Başka bir çalışmada da, asetilkoline yanıt olarak endotelial hücrelere bağli kontraksiyonların, SHR'lerin arterlerinde WKY'lerdekinden daha belirgin olduğu ve COX inhibitörleri ve TP-reseptör antagonistleri tarafından engellendiği gösterilmiştir. Hücre içi endotelial Ca^{+2} konsantrasyonunda asetilkoline bağli artışın, SHR arterlerinde daha fazla olması, kalsiyumun anormal taşınmasının bu belirginlikte kilit bir rol oynadığını kanıtlamıştır. Yetişkin SHR'nin aortasında, COX-1 ekspresyonu artmakta fakat aynı anlatım prehipertansif

farelerin arterlerinde veya aynı yaştaki WKY'lerinkinde farklı seyretmektedir. Bununla birlikte COX-1'in, yaşça çok daha büyük normal tansiyona sahip farelerin aortlarında arttığıda gösterilmiştir. Dolayısıyla enzimin yetişkin hipertansif hayvanların arterlerindeki aşırı ekspresyonu, genetik yatkınlıktan ziyade endoteliumun erken yaşlanmasını yansıtmaktadır. Prostatiklin sentaz geninin ekspresyonu, SHR'nin endotelial hücrelerinde, WKY'nin endotelinkinden daha fazladır ve enzimin varlığı hipertansif olanda daha da artmaktadır. Kronik hipertansiyondaki bu endotelial düzenlenmeler, asetilkolinin neden SHR arterlerinde daha yüksek bir endoperoksit ve prostatiklin salınımına sebep olduğunu açıklamaktadır. Endotele-bağlı kontraksiyonlar ayrıca, prostatiklinin hipertansif ve yaşlı normotansif hayvanların arterlerinde gevşemelere neden olma kabiliyetinin kaybı ile de desteklenmektedir. Çalışmalar göstermiştir ki, mRNA ekspresyonları ve TP reseptörlerinin varlığı WKY'lerin ve SHR'lerin arterlerinde benzerdir. Bununla birlikte, SHR'lerin TP reseptörleri, endoperoksitlere ve prostatikline karşı aşırı duyarlıdır. Bu aşırı-duyarlılık, prehipertansif SHR'lerin aortlarında mevcuttur; COX-1'in aşırı-ekspresyonundan farklı olarak, bu aşırı duyarlılığın, artmış bir arteriyal kan basıncına kronik olarak maruz kalmayı takip eden erken yaşlanmanın bir sonucundan ziyade hastalığın genetik temellerinden kaynaklı olduğu düşünülebilir (14,17,23). Asetilkoline yanıt olarak endotele-bağlı kontraksiyonlar, aynı zamanda normal tansiyona sahip diyabetik hayvanların arterlerinde de gösterilmiştir. EDCF'nin daha fazla salınımı, endotelial hücrelerin yüksek glukozaya maruz kalarak hem COX-1 hem de COX-2'nin aşırı ekspresyonuna ve oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır. Buna bağlı olarak diyabet durumunda, oksijenden-türemiş serbest radikallerin artan üretimi, endotelden-türemiş vazokonstriktör prostanooidlerin salınımının tetiklenmesinde ve yükselmesinde kilit bir rol oynamaktadır (14,17,23,25,26).

Eğer endotelden-türemiş COX ürünleri, insan endotel disfonksiyonunda yer alıyorsa, önemli soru enzimin hangi izoformunun sorumlu olduğudur. COX izoformlarının varlığı ile ilgilenen ve moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak insan kan damarlarına ait biyopsi örneklerinde yapılan birkaç araştırma, endotelial hücrelerin COX-1 içerdiğini fakat COX-2 içermediğini kanıtlamıştır (27). Bir istisna olarak, insan renal

arterleri gösterilmektedir (28). İn vitro koşullarda üretilen insan endotelial hücrelerinde, COX-2 varlığını göstermeyen araştırmaların çoğunluğu, aynı zamanda bu izoformun yokluğunu veya neredeyse tespit edilemez seviyelerini raporlamaktadır (27). Aksine, bu hücreler üzerine yapılan tüm araştırmalar, COX-1'in belirgin bir varlığını raporlamaktadır (27). Çoğu deneysel koşul altında COX-1 ekspresyonu genellikle değişmez olmasına rağmen; COX-2'nin çeşitli hücrelerdeki enzimlerin, diğer proteinlerin ekspresyonunu arttırdığı ve bilinen birkaç uyarıcı faktör aracılığıyla, özellikle sitokinler tarafından indüklenebildiği veya regülasyonunda artışa sebep olduğu bilinmektedir (27). Bu deneysel bulgular birleştirildiğinde, insan endotelial hücrelerindeki predominant COX izoformunun COX-2'den ziyade COX-1 olduğu güçlü şekilde ortaya çıkmaktadır. Bu sonuç, çoğu in vivo araştırmanın selektif COX-2 inhibitörlerinin, sağlıklı kontrollerin veya koroner hastalığı olan hastaların endotelial fonksiyon üzerinde hiçbir etkisinin olmadığına dair bulguları ile uyumlu görünmektedir. Hayvan arterleri üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, endotelden-türemiş prostanooid üretiminin, kronik hipertansiyon ve diyabet ile arttığını ve bu artışın NO salımı tarafından aracılık edilen endotele-bağlı vazodilatatör yanıtlara cevaben endotel disfonksiyonuna katkı yaptığını ikna edici şekilde ispatlamaktadır. Endotele-bağlı kontraksiyonların belirginliği en iyi, endotelial COX-1'in artan aktivitesi, artan miktardaki prostatikline yanıt olarak relaksasyonların yokluğu ve en sonunda kontraktıl süreci tetikleyen, vasküler düz kasın TP reseptörlerinin aşırı-duyarlılığının kombinasyonu ile açıklanmaktadır. İnsanlardaki mevcut dolaylı kanıtlar da, COX-1 tarafından üretilmiş olan endotelden-türemiş vazokonstriktör prostanooidlerin, yaşlanmanın ve spontan hipertansiyonun endotel disfonksiyonuna katkı sağladığını önermektedir (29,30).

Bu bilgiler ışığında, endotelden-türemiş vazokonstriktör prostanooidlerin insan endotelial fonksiyon bozukluğuna katılımını öneren hipotezler, her ne kadar ikna edici olsa da dolaylı kalmaktadır. İleride yapılacak daha geniş spektrumlu çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Cipollone F, Cicolini G, Bucci M. Cyclooxygenase and prostaglandin synthases in atherosclerosis: recent insights and future perspectives. *Pharmacol Ther* 2008;118 (2): 161-80.
2. Smith WL, Langenbach R. Why there are two cyclooxygenase isozymes. *J Clin Invest* 2001; 107(12): 149-1495.
3. Simmons DL, Botting RM, Hla T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev* 2004; 56(3): 387-437.
4. Félétou M, Huang Y, Vanhoutte PM. Endothelium-mediated control of vascular tone: COX-1 and COX-2 products. *Br J Pharmacol*. 2011; 164(3): 894-912.
5. Graupera M, García-Pagán JC, Parés M, et al. Cyclooxygenase-1 inhibition corrects endothelial dysfunction in cirrhotic rat livers. *J Hepatol* 2003; 39(4): 515-21.
6. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376.
7. Furchgott RF. Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite: the basis for the proposal that acid-activatable inhibitory factor from bovine retractor penis is inorganic nitrite and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide. In *Vasodilatation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium* (ed. Vanhoutte, P.M.). Raven Press, New York, 1988; 401-414.
8. Ignarro LJ, Byrns RE, Wood KS. Biochemical and pharmacological properties of endothelium-derived relaxing factor and its similarity to nitric oxide radical. In *Vasodilatation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium* (ed. Vanhoutte, P.M. ed.). Raven Press, New York, 1988; 427-436.
9. Moncada S. Nitric oxide in the vasculature: physiology and pathophysiology. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 811:60-7.
10. Busse R, Edwards G, Feletou M, et al. EDHF: bringing the concepts together. *Trends Pharmacol Sci* 2002; 23: 374-380.
11. Feletou M, Vanhoutte PM. *EDHF: The Complete Story*. Boca Raton CRC Taylor and Francis 2006; 1-298.
12. De Mey JG, Vanhoutte PM. Heterogeneous behavior of the canine arterial and venous wall. Importance of the endothelium. *Circ Res* 1982; 51: 439-447.
13. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 1989; 3: 2007-2018.
14. Vanhoutte PM, Feletou M, Taddei S. Endothelium-dependent contractions in hypertension. *Br J Pharmacol* 2005; 144: 449-458.
15. Feletou M, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture). *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H985-H1002.
16. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Tang E, et al. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiol* 2009; 196:193-222.
17. Feletou M, Tang EHC, Vanhoutte PM. Nitric oxide the gatekeeper of endothelial vasomotor control. *Front Biosci* 2008;13: 4198-4217.
18. Ge T, Hughes H, Junquero DC, et al. Endothelium-dependent contractions are associated with both augmented expression of prostaglandin H synthase-1 and hypersensitivity to prostaglandin H2 in the SHR aorta. *Circ Res* 1995; 76:1003-1010.
19. Traupe T, Lang M, Goettsch W, et al. Obesity increases prostanoid-mediated vasoconstriction and vascular thromboxane receptor gene expression. *J Hypertens* 2002; 20: 2239-2245.
20. Yang D, Félétou M, Levens N, et al. A diffusible substance(s) mediates endothelium-dependent contractions in the aorta of SHR. *Hypertension* 2003; 41:143-148.
21. Tang EH, Ku BB, Tipoe GL, et al. Endothelium-dependent contractions occur in the aorta of wild-type and COX2-/- knockout but not COX1-/- knockout mice. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46: 761-765.
22. Gluais P, Paysant J, Badier-Commander C, et al. In SHR aorta, calcium ionophore A-23187 releases prostacyclin and thromboxane A2 as endothelium-derived contracting factors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H2255-H2564.
23. Vanhoutte PM, Tang EH. Endothelium-dependent contractions: when a good guy turns bad!. *J Physiol (Lond)* 2008; 586: 5295-5304.
24. Smith WL, DeWitt DL, Garavito RM. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev Biochem* 2000; 69: 145-182.
25. Tesfamariam B. Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction. *Free Radic Biol Med* 1994; 16: 383-391.
26. De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, et al. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 963-974.
27. Flavahan NA. Balancing prostanoid activity in the human vascular system. *Trends Pharmacol Sci* 2007; 28: 106-110.
28. Therland KL, Stubbe J, Thiesson HC, et al. Cyclooxygenase-2 is expressed in vasculature of normal and ischemic adult human kidney and is colocalized with vascular prostaglandin E2 EP4 receptors. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(5): 1189-98.
29. Taddei S, Virdis A, Mattei P, et al. Hypertension causes premature aging of endothelial function in humans. *Hypertension* 1997; 29: 736-743.
30. Monobe H, Yamanari H, Nakamura K, et al. Effects of low-dose aspirin on endothelial function in hypertensive patients. *Clin Cardiol* 2001; 24: 05-709.