

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

RAT AORTUNDA HEPARİNİN OLUŞTURDUĞU
GEVŞETİCİ YANITTA HİDROJEN SÜLFÜRÜN ROLÜ

Begüm TURAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2019-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

RAT AORTUNDA HEPARİNİN OLUŞTURDUĞU
GEVŞETİCİ YANITTA HİDROJEN SÜLFÜRÜN ROLÜ

Begüm TURAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Cahit NACİTARHAN

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2019-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Farmakoloji Programında Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 26/06/2019

İmza

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Cahit NACİTARHAN
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Coşkun USTA
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Dr Öğr. Üyesi Şükriye YEŞİLOT
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Begüm TURAN



Tez Danışmanı

Doç. Dr. Cahit NACİTARHAN



TEŐEKKÜR

Yüksek lisans eğitiminin boyunca sahip olduğu bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam sayın Doç. Dr. Cahit NACİTARHAN'a,

Değerli fikirleri, rehberliği ve akademik gelişimime tüm katkıları için, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalındaki tüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma,

Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına,

Beni yetiştiren ve her zaman yanımda olan canım aileme,

Bana hep destek olan yol arkadaşım Mustafa Şenol KELLEBAŞ'a içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Projenin amacı yeni bir hedef olarak hidrojen sülfürün fraksiyonel olmayan heparinin damarda oluşturduğu gevşetici etkide hidrojen sülfürün rolü ve katkısının belirlenmesidir. Amaç sadece heparinin gevşetici etkisinde hidrojen sülfürün olup/olmadığını belirlemek değil, aynı zamanda diğer gevşeme mekanizmalarıyla karşılaştırmak ve katkı oranını da belirlemektir.

Yöntem: Deneylede 9-12 haftalık Wistar türü sıçandan elde edilen damarlarda, endoteli sağlam ve endotelsiz preparatlarda gevşetici yanıtlar incelenmiştir. Fenilefrin ile önkasılma oluşturulan abdominal aorta halkalarının, yapısal ve indüklenebilir nitrik oksid sentaz (NOS) izoformlarının blokörü olan L-NAME (10^{-4} M) ile, L-NAME (10^{-4}) ve indometazin (10^{-5} M) ile, karibdotoksin (10^{-7} M), apamin (10^{-7} M) kombinasyonu ile, kümülatif heparin konsantrasyonlarıyla gevşeme yanıtlarının değişimi belirlenmiştir. Ayrıca; AOAA- $(2 \times 10^{-3} \text{M})$, inkübasyonu öncesi ve sonrasında heparinin (0,5-6U/ml), benzer şekilde L-NAME, indometazin, apamin/karibdotoksin'in farklı kombinasyonlarının yanına AOAA ekleyip FE ile kasılmış damar preparatında tekrar heparinin kümülatif konsantrasyonlarıyla gevşeme yanıtları alınıp, karşılaştırılmıştır. Bunların dışında L-sistein (100 mikromolar) ve/veya L-sistein (100 mikromolar) ve Glibenklamid (100 mikromolar) ile inkübasyon sonrası fenilefrinle kasılan dokuda heparinin kümülatif konsantrasyonlarıyla gevşeme yanıtları alınıp, karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Endoteli sağlam ve endoteli hasarlı iki dokuda heparin; özellikle endoteli sağlam damar preparatlarında gevşetici etki oluşturmuştur. H_2S üretiminde yer alan CBS enzim inhibitörü AOAA ile inkübe edildikten sonra gevşeme yanıtının azaldığı görülmektedir. L-NAME ile inkübasyon sonrasında FE ile kasılan dokuda heparinin gevşetici etkisi tamamen ortadan kalkmamaktadır. AOAA, inkübasyonuyla görülen gevşeme yanıtındaki azalmayla, indometazin varlığında görülen azalma karşılaştırılınca H_2S 'in prostaglandinlere göre daha fazla heparinin gevşetici mekanizmasında yer aldığı görülmektedir.

Sonuç: Heparin konsantrasyona bağlı olarak rat aortunda gevşeme yanıtı oluşturmaktadır. Bu gevşeme mekanizmasında H_2S 'de yer alıyor gibi görünmektedir. H_2S bu gevşemeyi, ağırlıklı olarak K_{ATP} potasyum kanalları aracılığıyla olmak üzere, olasılıkla diğer potasyum kanalları aracılığıyla yapmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Heparin, hidrojen sülfür, damar gevşemesi

ABSTRACT

Objective: The aim of the project is to determine the role and contribution of hydrogen sulfide in the relaxation effect of non-fractional heparin in the vessel as a new target. The aim is not only to determine whether hydrogen sulfide is present under the relaxing effect of heparin, but also to compare it with other relaxation mechanisms and to determine the contribution rate.

Method: In the experiments, the relaxation responses of the vessels obtained from 9-12 weeks old Wistar rats and in the endothelial intact and non-endothelial preparations were investigated. Carbdotoxin with L-NAME (10⁻⁴ M), L-NAME (10⁻⁴) and indomethacin (10⁻⁵ M), blockers of structural and inducible nitric oxide synthase (NOS) isoforms of abdominal aorta rings precontracted with phenylephrine (10⁻⁷ M), apamine (10⁻⁷ M) combination, cumulative heparin concentrations and relaxation responses were determined. Also; AOAA- (2x10⁻³M), before and after incubation, heparin (0.5-6U / ml), similar to L-NAME, indomethacin, apamine / caribdotoxin next to the different combinations of AOAA added with the cumulative concentrations of heparin again in the contracted vessel preparation relaxation responses were obtained and compared.

Results: Heparin in two tissues with intact endothelium and endothelium damaged; especially in endothelial damaged vascular preparations. It is seen that the relaxation response decreases after incubating with CBS enzyme inhibitor AOAA in H₂S production. It is seen that the relaxation response decreases after incubating with CBS enzyme inhibitor AOAA in H₂S production. After the incubation with L-NAME, the relaxing effect of heparin in FE contracted tissue is not completely eliminated. Compared to the decrease in the relaxation response seen by AOAA incubation and the decrease in the presence of indomethacin, it is seen that H₂S is involved in more heparin relaxant mechanism than prostaglandins.

Conclusion: Heparin produces relaxation response in rat aorta depending on concentration. This relaxation mechanism appears to be involved in H₂S. H₂S performs this relaxation, possibly through other potassium channels, mainly through KATP potassium channels.

Key words: Heparin, hydrogen sulfide, vasorelaxation

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Nitrik Oksit	2
2.1.1. NO'nun Sentezi	3
2.1.2.NO'nun Genel Özellikleri	4
2.1.3. NO'nun Fizyolojik ve Farmakolojik Etkileri	5
2.2.Hidrojen Sülfür	12
2.2.1. Hidrojen Sülfürün Sentezi	13
2.2.2. Hidrojen Sülfürün Genel Özellikleri	14
2.2.3.Hidrojen Sülfürün Fizyolojik ve Farmakolojik Etkileri	15
2.3.Heparin	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1. Deneysel Model ve Kullanılan Gereçler	25
3.2.Deney Protokolü	25

3.3.İstatiksel Analiz	26
4. BULGULAR	27
4.1.Heparinin Endoteli Sağlam ve Hasarlı Damar Preparatındaki Gevşetici Etkisi	26
4.2. H ₂ S İnhibitörü Varlığında ve Yokluğunda Heparinle Oluşan Gevşeme Yanıtları	28
4.3. H ₂ S İnhibitörü ve L-NAME Varlığında Heparinle Oluşan Gevşeme Yanıtları	30
4.4. H ₂ S İnhibitörü ve İndometazin Varlığında ve Yokluğunda Heparinle Oluşan Gevşeme Yanıtları	32
4.5. H ₂ S İnhibitörü ve Apamin ve Charybdotoxin Varlığında ve Yokluğunda Heparinle Oluşan Gevşeme Yanıtları	33
4.6. Heparinle Oluşturulan Gevşeme Yanıtında Bir H ₂ S Prekürsörü Olan L-sistein ve KATP İnhibitörü olan Gilbenklamidin Etkileri	34
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	37
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	: NO sentez yolakları	4
Şekil 2.	: H ₂ S'in sentez yolakları	14
Şekil 3a.	: Heparinin endoteli sağlam damar preparatındaki gevşetici etkisi	26
Şekil 3b.	: Heparinin endoteli hasarlı damar preparatındaki gevşetici etkisi	26
Şekil 3c.	: Endoteli sağlam ve hasarlı damarlarda heparinin gevşetici etkisi	27
Şekil 4a.	: H ₂ S inhibitörü varlığında heparinle oluşan gevşeme yanıtları	28
Şekil 4b.	: H ₂ S inhibitörü yokluğunda heparinle oluşan gevşeme yanıtları	28
Şekil 4c.	: H ₂ S inhibitörü varlığında ve yokluğunda heparinle oluşan gevşeme yanıtları	29
Şekil 5a.	: L-NAME varlığında ve heparinle oluşan gevşeme yanıtları	30
Şekil 5b.	: H ₂ S inhibitörü varlığında heparinle oluşan gevşeme yanıtları	30
Şekil 5c.	: H ₂ S inhibitörü ve LNAME varlığında heparinle oluşan gevşeme yanıtları	31
Şekil 5d.	: H ₂ S inhibitörü ve LNAME varlığında ve yokluğunda heparinle oluşan gevşeme yanıtları	31
Şekil 6.	: H ₂ S İnhibitörü ve İndometazin varlığında ve yokluğunda heparinle oluşan gevşeme yanıtları	32

- Şekil 7.** :H₂S İnhibitörü ve Apamin ve Charybdotoxin varlığında ve yokluğunda heparinle oluşan gevşeme yanıtları 33
- Şekil 8.** Heparinle Oluşturulan Gevşeme Yanıtında Bir H₂S Prekürsörü olan L-sistein ve KATP İnhibitörü olan Gilbenklamidin Etkileri 34

SİMGELER ve KISALTMALAR

3-MST	3-merkaptopiruvat sülfür transferaz
ACh	: Asetilkolin
AOAA	Amino-oxyacetate
BH4	: (6R-) 5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterin
BKCa	Büyük Kondüktanslı Kalsiyumla Aktive Edilen Potasyum Kanal Blokörü
Ca⁺²	: Kalsiyum
Ca⁺²	Kalsiyum
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	Sistein Aminotrasferaz
CBS	Sistatyonin β sentaz
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
CO	: Karbon Monoksit
CSE	Sistatyonin γ liyaz
EDHF	: Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotid
FBF	: Femoral Kan Akımı

FE	Fenilefrin
FMN	: Flavin Mononükleotid
GTP	: Guanozin Trifosfat
H₂S	: Hidrojen Sülfür
HUVEC	: Human Umbilical Vein Endothelial Cell
IFN- γ	: İnterferon- γ
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
IP₃	: İnositol Trifosfat
IRAG	: İnositol 1,4,5-trisphosphate receptor I (IP(3)RI)- associated protein
K⁺	: Potasyum
K⁺	Potasyum
K_{ATP}	ATP Bağımlı Potasyum
KB	: Kan Basıncı
LMWH	Low Molecular Weight Heparin
L-NAME	: NG-nitro-L-arginin metil ester
L-NMMA	: NG monometil-L-argininin
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NMDA	: Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı
NMDA	Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	: Nitrik Oksit
NSAİİ	Non-Steroidal Antiinflamatuvar İlaç
PDE	: Fosfodiesteraz
PDE	Fosfodiesteraz
PKG	: Protein kinaz G
PKG	Protein kinaz G
SERCA	: Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca ²⁺ -ATPase
sGC	: Suda Çözünür Guanilat Siklaz
SKCa	Küçük Kondüktanslı Kalsiyumla Aktive Edilen Potasyum Kanal Blokörü
SOD	Süper Oksit Dismutaz
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
UFH	Unfractionated Heparin
VSMC	: Vascular Smooth Muscle Cells
	:

1.GİRİŞ

Çeşitli nedenlerle damar gevşeme yanıtları ve damar kompliansının bozulması, günümüzdeki pek çok hastalığın, özellikle kardiyovasküler hastalıkların temelinde yatan mekanizmalardan biri olarak görülmektedir. Bu tür hastalıkların tedavisinde azalan gevşeme yanıtlarının çeşitli ilaçlarla yerine koyulması, düzeltilmesi yaklaşımı vardır. Bu amaçla eskiden beri hakkında daha çok bilgilere sahip olunan endotel aracılı gevşeme mekanizmaları, özellikle de bir “gaz transmitter” olan nitrik oksitle ilgili yolaklar, hem ilaç geliştirilmesi hem de hastalıkların patolojisini anlamak için üzerinde en fazla durulan ve çalışılan alandır. Fakat günümüzde yine bir “gaz transmitter” olan hidrojen sülfürün (H₂S) de çeşitli durumlarda endotel aracılı gevşeme yanıtları oluşturabildiğine ilişkin bilgiler hızlı bir şekilde artmaktadır. Hidrojen sülfürün damarlarda oluşturduğu fizyolojik ve/veya patolojik etkilerinin ortaya çıkarılması, hastalıkların oluşum mekanizmaları ve ilaçların etki mekanizmalarındaki yerinin ortaya çıkarılması, yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkıda bulunacaktır. Bu projede hedefimiz fraksiyonel olmayan heparinin damarlarda oluşturduğu gevşemede hidrojen sülfürün olası katkısını belirlemek, heparinin oluşturduğu gevşemede bilinen diğer gevşetici mekanizmalarla hidrojen sülfürün oluşturduğu gevşemeyi ve oranlarını karşılaştırmaktır. Bu amaçla heparinle oluşan gevşemenin nitrik oksit sentaz inhibitörüyle, EDHF blokajıyla, COX inhibisyonuyla ve hidrojen sülfür sentez inhibitörlerinden ayrı ayrı her biriyle sonrasında ikili, üçlü ve dördü kombinasyonlarıyla ne kadar inhibe edildiği araştırılacak, bu yolaklar arasındaki inhibitör etkinlik miktarı karşılaştırılacaktır. Hidrojen sülfürün, heparinin oluşturduğu gevşeme yanıtları üzerindeki olası etkisinin gösterilmesi pek çok vazodilatör ajan içinde yeni bir yolak olasılığı ortaya koymuş olacaktır. (Cirino ve ark., 2017)

2.GENEL BİLGİLER

Günümüzde nitrik oksit (NO), karbonmonoksit (CO) ve hidrojen sülfür (H₂S) normal koşullarda gaz yapısında olan endojen mediyatörlerdir (Cirino ve ark., 2017). Bu üç gaz halindeki transmitterin arasında, en son tanımlanan H₂S olmuştur. NO ve CO'nun düzlemsel yapısının aksine; H₂S'in üç boyutlu bir kimyasal yapıya sahip olduğu bilinmektedir (Cirino ve ark., 2017). Gaz halindeki endojen moleküllere üçüncü olarak H₂S'in eklenmesiyle birlikte; bilim adamları, her geçen gün büyüyen mediyatör sınıflandırmasına atıfta bulunmuştur ve endojen mediyatörler içinde yeni bir sınıf olarak 'gaz halindeki transmitterler' oluşturulmuştur (R. Wang, 2002).

Gaz halindeki transmitterler kardiyovasküler, inflamatuvar ve sinir sistemi fizyolojisinde kritik önem taşıyan transmitterlerdir (R. Wang, 2002). Gasotransmitterler, yapısal olarak çok küçük, saniyelerle dakikalar arasında değişebilen, çok kısa yarılanma ömrüne sahip, enzimatik reaksiyonlarla vücutta sentezlenebilen kararsız moleküllerdir (R. Wang, 2002). Gaz olması demek; bu transmitter moleküllerin spesifik bir transporter olmadan serbestçe hücreler arasına sızabileceği ve biyosentez yapılan alandan nispeten uzaktaki moleküler hedeflere ulaşabileceği anlamına gelmektedir. Bu özellik yeni bir konsepti ortaya çıkarmaktadır: Gaz halindeki transmitterler tarafından başlatılan biyolojik etki, tek bir spesifik hedefle etkileşime bağlı değildir (Cirino ve ark., 2017). Bir kez üretilen, benzersiz kimyasal yapıya sahip gasotransmitterlerin, pek çok moleküler yapıyla etkileşime girerek hücreler arasında serbestçe dolaştıkları bilinmektedir (Cirino ve ark., 2017).

NO ve CO, ilk tanımlanan gaz halindeki transmitterlerdir. Yakın zamanda yapılmış pek çok çalışmada da H₂S'nin de muhtemel bir diğer gaz halindeki transmitter olabileceği önerilmiştir (R. Wang, 2002).

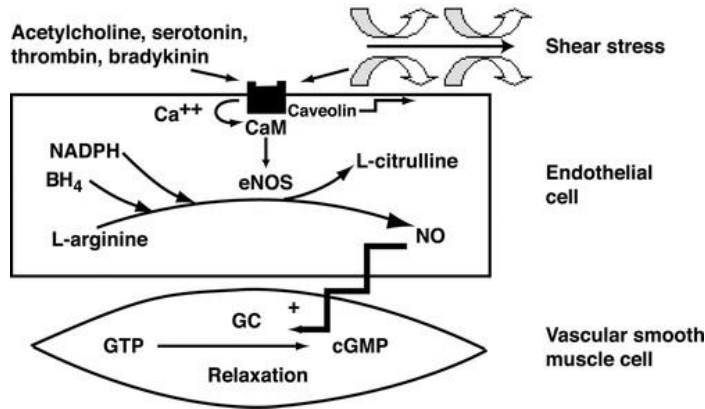
2.1.Nitrik Oksit

NO, tanımlanmış ilk gaz halindeki transmitterdir. İzole edilmiş kan damarlarında yapılan ilk çalışmalarda tanımlanmıştır (Furchgott ve Zawadzki, 1980). Furchgott ve Zawadzki, asetilkolin ile gevşeyen tavşan aortunun zedelenmemiş endotel tabakasının varlığında çalıştığını göstermişlerdir. 1980 yılındaki devrim niteliğindeki bu buluşla; asetilkolin

kaynaklı, damarlarda gevşeme yanıtının bir mediyatörü olarak endotelial aracılı gevşeme faktörünün varlığı (EDRF) öne sürülmüştür (Furchgott ve Zawadzki, 1980). Son olarak 1988 yılında EDRF'nin NO olduğu bulunmuştur (Ignarro ve ark., 1988). Bu çalışmaları yapan üç bilim adamı 1998 yılında Tıpta Nobel Ödülü'nü paylaşmışlardır.

2.1.1.NO'nun Sentezi

Damar sisteminde, endotelde, substrat L-arginin'in moleküler oksijen ile birlikte ve NADPH'nin substratlar olarak indirgenmesiyle endotelial NOS'un (eNOS) enzimatik reaksiyonunun bir ürünü olarak NO üretilmektedir. NO biyosentezi iki eNOS molekülünün dimerizasyonunu ve flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), (6R-) 5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterin (BH₄), kalmodulin ve demir protoporfirin IX (hem) gibi çeşitli kofaktörlerin varlığını gerektirmektedir (Forstermann ve Sessa, 2012; Y. Zhao ve ark., 2015). Endotelial hücrelerde NO oluşturulduğunda; düz kas hücrelerine difüze olmakta ve sGC'nin hem grubuna bağlanarak GTP'nin cGMP'ye dönüşümüne neden olmaktadır. PKG'ye bağlı bir mekanizma aracılığıyla bu ikincil haberci, intraselüler Ca⁺² konsantrasyonunun azalmasına neden olan bir downstream sinyallemeyi harekete geçirmektedir. Ca⁺² konsantrasyonunun azalması, miyozin hafif zincir kinaz tarafından miyozin fosforilasyonunu önlemekte, bunun sonucu olarak damar gevşemesi görülmektedir (Word ve ark., 1994; Mizuno ve ark., 2008). Bu yolak fosfodiesterazın (PDE) katabolik etkisiyle, cGMP'nin inaktif metaboliti 5'-GMP'ye degradasyonu ile kapanmaktadır (Conti ve Beavo, 2007).



Şekil 1. NO sentez yolları

Hücreler boyunca ilerlemesi sırasında NO, *cGMP'ye bağlı olmayan bir şekilde*, hücrel sinyallemeyi modüle etmede önemli bir rol oynamaktadır. Bu alternatif sinyal rolü *S-nitrosotiyoller (SNO)* olarak adlandırılan; NO ve L-sisteinin tiyol grubunun, yeni bir kimyasal oluşumu ile protein sistein tiyollerinin kovalent bir modifikasyonu ile olan, NO ile L-sistein tiyol grubu arasındaki redoks reaksiyonunu içermektedir. Bununla birlikte, NO kısmının ilave edilmesinin, nitrozilaz adı verilen bir enzim sınıfı tarafından katalize edilebileceği yakın zamanda gösterilmiştir (Foster ve ark., 2003; Stamler ve Hess, 2010). Bu geri dönüşümlü, hızlı reaksiyona S-nitrozilasyon denilmektedir. S-nitrozilasyonun önemi iyi bilinmektedir ve şimdilerde hücrel fonksiyonun ve redoks sinyallesinin (enzimatik aktivite, subselüler lokalizasyon, protein-protein etkileşimi ve protein stabilitesi) modüle edilmesi için gerekli bir moleküler mekanizma olarak düşünülmektedir. S-nitrozilasyonun kimyasal niteliği göz önünde bulundurulduğunda, çok sayıda proteinin (yüzlerce) bu post-translasyonel modifikasyona uğrayabilmesi durumunun NO'nun eylemlerinin çeşitliliğini açıklayabileceği düşünülmektedir.

Şimdiye kadar, iki enzimsel denitrozilasyon sistemi tanımlanmıştır - tioredoksin (TRX) / TR sistemi ve GSH / GSNO sistemi. Her ikisi için de fizyolojik koşullar altında önemli bir düzenleyici işlev tanımlanmıştır (Benhar ve ark., 2009; Forrester ve ark., 2009; Anand ve Stamler, 2012). Kan damarı duvarında, konneksinin S-nitrozilasyon / denitrozilasyonu, endotel ve düz kas hücreleri arasındaki boşluk bağlantısının (gap junction) fonksiyonlarını düzenleyen heteroselüler iletişimde birincil rol oynamaktadır (Straub ve ark., 2011). Bu sistemin disregülasyonu, kalp yetmezliği, inme, preeklampsi ve pulmoner hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklarda rol oynamaktadır (Moya ve ark., 2002; Bryan ve ark., 2008; Kunieda ve ark., 2008; Foster ve ark., 2009; Gonzalez ve ark., 2009; Que ve ark., 2009).

2.1.2.NO'nun Genel Özellikleri

NO, hücrelerde NO sentaz (NOS) enzimiyle lokal olarak üretilir. NO, siklik GMP oluşumunu uyarmak üzere guanilat siklazın çözünür formunu uyarır. NOS'un 3 farklı genden kaynaklanan 3 izoformu tanımlanmıştır: Nöronal NOS (nNOS veya NOS1), endotelial NOS (eNOS veya NOS3) ve indüklenebilir NOS (iNOS veya NOS2). Bu enzimin her 3 izoformu da yaygın olarak tüm sistemlerde eksprese edilir, fakat özellikle kardiyovasküler sistemdeki miyositlerde, damar ve düz kas hücrelerinde, hematopoetik

hücrelerde ve trombositlerdeki ekspresyon önemlidir (Bredt ve Snyder, 1990). Hücre içi Ca^{+2} düzeyindeki yükselme, kalmodulin aracılığıyla, nNOS ve eNOS'u belirgin olarak aktive eder, indüklenebilir form Ca^{+2} 'ye daha az duyarlıdır, fakat hücrelerde iNOS protein sentezi; endotoksin, TNF- α , interleükin-1 β ve interferon- γ gibi inflamatuvar uyarılar ile 1000 kattan fazla indüklenebilir (Lowenstein ve ark., 1992).

NOS, L-arginin'in guanido nitrojeninin oksidasyonunu katalizleyerek NO ve L-sitrülin oluşturur. NO, bir protoporfirin-IX-hem bölümü içeren bir heterodimer olan çözünür guanilat siklaz (sGC)'ı aktive eder. NO bu bölüme düşük nM derişimde bağlanır ve guanilat siklazın V_{max} 'ında 200-400 kat artış oluşturarak hücrel siklik GMP'nin artmasına neden olur. Siklik GMP'nin damar sistemindeki hücrel etkilerine, başta PKG olmak üzere, çeşitli mekanizmalar aracılık eder. Damar düz kasında PKG'nin aktivasyonu şu mekanizmalarla vazodilatasyona neden olur:

-Hücre içi depolardan IP3-aracılı Ca^{+2} salıverilmesini inhibe etmek

-Voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarını fosforilleyerek Ca^{+2} influksunu inhibe etmek

-Sarkoplazmik Ca^{+2} pompasının bir düzenleyicisi olan fosfolamban'ı fosforilleyerek Ca^{+2} 'nin hücre içi depolara daha hızlı geri alımını sağlamak

- Ca^{+2} ile inhibe edilen K^{+} kanallarını fosforilleyerek ve açarak hücre zarının hiperpolarizasyonuna ve sonucunda L-tipi Ca^{+2} kanallarının kapanmasına ve hücre içine Ca^{+2} akışının azalmasına yol açmak (Goodman ve Gillman).

2.1.3. NO'nun Fizyolojik ve Farmakolojik Etkileri

Damar sisteminde NO'nun endotel hücreleri tarafından bazal üretimi dinlenim durumundaki damar tonusunun belirleyicisidir. NO düz kasların dilatasyonuna ve trombosit agregasyonu ile adezyonunda inhibisyona neden olur. Azalmış NO üretiminin aterosklerozda, hipertansiyonda, serebral ve koroner vazospazmda, iskemi ve reperfüzyon hasarında, inflamasyonda ve santral nosiseptif yollarda rolü vardır. NO dolaşımında oksihemogloblin ve hem'deki demir ile tepkimeye girerek nitrozil-hemogloblin oluşmasına yol açar ve hızla etkisizleştirilir. Aynı zamanda düşük miktarlarda

methemoglobin de üretilir ve sitokrom b5 redüktaz enzimi tarafından hem demirinin ferröz biçimine dönüştürülür (Goodman ve Gillman).

NO'nun Santral Sinir Sistemi Üzerindeki Etkileri

NO'nun sinir sisteminde bir sinyal molekülü olarak keşfedilmesi sinir iletim/iletişim kavramını kökten değiştirmiştir (Bruhwyler ve ark., 1993). NO'nun fiziksel özelliği, lipit kaplı veziküllerde depolanarak hidrolitik enzimler tarafından metabolize olmasının engellenebilmesidir. Bu nedenle, konvansiyonel nörotransmitterlerin aksine, NO ne sinaptik veziküllerde depolanır ne de ekzositozla salınır, ancak ihtiyaç halinde optimum miktarda sentezlenir. Basit olarak hem nöronal hem de nöronal olmayan üretici hücrenin etrafındaki yapıya difüze olur ve lokal beyin metabolizmasını, beyin kan akışını, gen ekspresyonunu ve çeşitli nörotransmitterlerin salımını düzenler (Esplugues, 2002). Diğer yandan, aşırı üretimi, çeşitli nöronal bozukluklara, nörotoksositeye neden olur ve glutamat benzeri bir nörotoksik kaskadı başlatır (Esplugues, 2002).

NO'nun işlevleri hücre tipine ve enzim izotipine bağlı olarak değişir. nNOS, sinapslar arasında retrograd sinyaller oluşturarak nörotransmisyonu katılmaktadır. Sinapslarda, nNOS, PSD-95 (postsinaptik density-95) protein kompleksleri aracılığıyla NMDA reseptörüne bağlanır (Sattler ve ark., 1999). NMDA reseptörünün glutamat uyarımı üzerine, Ca^{+2} iyon kanalı boyunca sitoplazmaya girer, burada kalmodulin ile birlikte nNOS aktivasyonunu ve NO üretimini tetikler (Bredt ve ark., 1991). Fizyolojik koşullar altında üretilen düşük NO seviyeleri, pek çok normal hücre içi sinyal yolağını uyarır. Buna karşın, NMDA reseptörünün aşırı uyarılması ve ardından Ca^{+2} akışı, patolojik sinyallemeyi indükler ve bunun sonucunda nöral hasarın ve NO'nin toksik seviyelerinin üretilmesi ölüme neden olur (Lipton ve ark., 1993). Alzheimer hastalığında nitrozatif stresin birincil bir aktivatörü, NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılmasını takiben, fazla Ca^{+2} 'nin sitozole salınmasıdır. nNOS, MSS'deki sinaptik iletimin uzun süreli düzenlenmesine, kan basıncının merkezi olarak düzenlenmesine, düz kas gevşemesine ve periferik nitregik sinirler aracılığıyla vazodilatasyona aracılık eder. Ayrıca; serebrovasküler inmede nöronal hücre ölümüne de neden olur (Forstermann ve Sessa, 2012).

Akut inflamatuvar stimölasyonlarla uyarılan iNOS, nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde güçlü bir şekilde yer almaktadır. Aktive edilmiş glial hücrelerde iNOS indüksiyonu yoluyla NO'nun patolojik seviyeleri; çeşitli nörodejeneratif hastalıklara yol açar. Ayrıca NO; tiollerle ve çeşitli enzimlerin iyon-kükürt merkeziyle büyük ölçüde etkileşime girmek için, nitrit peroksinitrite ve serbest radikallere oksitlenir ve bu da apoptoz, nörotoksisite, nöronal dejenerasyon ve sayısız MSS bozukluğu ile sonuçlanır (Chiou, 2001). iNOS aktivasyonu gen transkripsiyonunu gerektirmektedir ve iNOS' un indüksiyonu; lipopolisakkaritler, interlökin (IL)-1 β , IL-2, interferon- γ (IFN- γ) ve tümör nekroz faktörü (TNF) gibi endotoksin ve sitokinlerden etkilenebilir. Yaşlanma ile birlikte; beyin omurilik sıvısındaki ve periferik dolaşımdaki TNF seviyelerinin artmasının yanı sıra; monositlerde de IL-1 β ve IFN- γ seviyelerinin arttığı bilinmektedir (Cannon, 1995).

eNOS'un temel fonksiyonu, cGMP-aracılı sinyal iletim yolağı ile vasküler düz kas gevşemesinin düzenlenmesidir. eNOS çoğunlukla endotel hücrelerinde eksprese edilmesine rağmen; aynı zamanda kalp monositlerinde, trombositlerde ve beynin belirli nöronlarında da bulunur. Ca⁺² ile aktifleştirilmiş kalmodulin, eNOS aktivitesinin düzenlenmesi için önemlidir. eNOS pulsatil olarak NO üretir, hücre içi Ca⁺² seviyeleri yükseldiğinde eNOS aktivitesi de artar. eNOS'un inflamatuvar koşullar altında uyarıldığı bildirilmiştir (Borsani ve ark., 2013). eNOS, hipokampusta uzun vadeli güçlenme ve beynin çeşitli bölgelerinde NMDA ile uyarılmış gama-aminobütirik asit salımı gibi nöronal fonksiyonlarda da rol oynar (Garthwaite, 2008).

NO'nun Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri

NO'nun Vazodilatör Etkisi

NO, endotelial hücrelerde sentezinin ardından, alt tabakadaki vasküler düz kas hücrelerine (VSMC) yayılır ve sGC içeren hem aktive eder (Ignarro ve ark., 1986). sGC'nin uyarılması, GTP'nin cGMP'ye dönüşümüne neden olur. cGMP, hücre içi Ca⁺²'yi azaltır ve damar gevşemesine neden olur (Horowitz ve ark., 1996). cGMP, etkilerini ana mediyatörü olan protein kinaz G (PKG) yoluyla gerçekleştirir ve kardiyovasküler sistemde PKG'nin en çok kullanılan izoformu hem düz kas hücrelerinde hem de trombositlerde bulunan PKG I'dir (Lohmann ve ark., 1997). PKG I substratları

fosfolamban (Cornwell ve ark., 1991) ve IP3 reseptörü ile ilişkili cGMP kinaz substratıdır (IRAG) (Schlossmann ve ark., 2000). PKG I, fosforlanmış haliyle enzimin aktivasyonu ile sonuçlanan sarkoplazmik retikulum ATPaz (SERCA)'dan ayrıldığı fosfolambanı fosforile eder (Cornwell ve ark., 1991). SERCA, Ca⁺² 'nin hücre içi depolardan daha fazla ayrılmasına yol açar, böylece Ca⁺² hücre içinde azalır (Cohen ve ark., 1999). Hücre içi depoların yeniden doldurulması Ca⁺² akışını inhibe eder, bu da Ca⁺² nin düşük seviyelerini oluşturur ve damar gevşemesine yol açar (Cohen ve ark., 1999). Ayrıca PKG I, IRAG'ı fosforile eder; bu da, sarkoplazmik retikulumdan IP3 ile indüklenen Ca⁺² salımının güçlü bir inhibisyonuna ve bir kez daha Ca⁺² 'de azalmaya neden olur (Cornwell ve ark., 1991). NO, Ca⁺² bağımlı potasyum kanallarını aktive ederek hücre zarının hiperpolarizasyonuna ve Ca⁺² girişinin azalmasına neden olabilir. Bu etki PKGI' ya hem bağımlıdır (Sausbier ve ark., 2000) hem de bağımlı değildir (Bolotina ve ark., 1994). Ek olarak, PKG I aracılığıyla Ca⁺² nin azalmasına bağlı olarak; voltaj kapılı Ca⁺² kanallarının inhibe edildiğine dair kanıtlar vardır (Blatter ve Wier, 1994).

NO'nun endotel tarafından bazal salınımı, rezistans arterlerde bazal tonusun korunmasında ve kan basıncının tonik düzenlenmesinde (KB) ve kan akışının dağılımında önemli bir rol oynar. Tavşanlarda, NOS'u inhibe eden endojen bir metillenmiş L-arjinin analogu olan NG monometil-L-argininin (L-NMMA) intravenöz infüzyonunun, doza bağlı bir şekilde ortalama arter kan basıncını arttırdığı; fakat ACh infüzyonunun hipotansiyona neden olduğu gösterilmiştir. ACh'nin etkisinin L-NMMA tarafından ters çevrildiği ve L-NMMA'nın etkisini inhibe etmek için; L-arginin eklendiği bulunmuştur (Rees ve ark., 1989). Sağlıklı insanlarda yapılan başka bir çalışmada, L-NMMA'nın brakial arter infüzyonunun, ön kol kan akışında (FBF) doza bağımlı bir azalmaya neden olduğu ve bu durumun da L- arginininin infüzyonuyla birlikte önlendiği bulunmuştur. Bu deneylerde ACh, FBF'yi arttırmıştır ve bu etki, L-NMMA ile zayıflatılmıştır. Bu çalışmanın araştırmacıları, endotel kaynaklı NO'nun önkol arter vaskülatüründe sürekli olarak salındığı ve bazal kan akışının belirlenmesinde ve ACh'nin vasodilatasyon etkisine aracılık etmede önemli bir rol oynadığı sonucuna varmıştır (Vallance ve ark., 1989). Bu erken bulguların doğrulanmasıyla birlikte yapılan yeni çalışmalarda L-NMMA'nın akut intravenöz infüzyonunun sağlıklı insanlarda ortalama

arter basıncını arttırdığı gösterilmiştir (Haynes ve ark., 1993; Stamler ve ark., 1994). Uzun dönem hayvan çalışmalarında, sıçanlarda NOS inhibitörü NG-nitro-L-arginin metil esterinin (L NAME) kronik infüzyonunun zamana ve doza bağlı hipertansiyona neden olduğu (Arnal ve ark., 1993) ve NOS3 geni olmayan farelerin aort halkalarının ACh'le gevşemediği, hipertansiyon geliştirdiği (Huang ve ark., 1995) ve vasküler hasara yanıt olarak neointimal proliferasyonda artış olduğu (Huang, 1998) gösterilmiştir.

NO'nun Antiagregan Etkisi

Vasküler endotel tarafından üretilen NO, endotele (Radomski ve ark., 1987d, 1987c) ve trombositlerin bir birine (Radomski ve ark., 1987b) yapışmasını azaltıp, agregasyonu azaltıp ve aktif trombositlerin ayrışmasını uyarır (Radomski ve ark., 1987a). NOS inhibisyonu insanlarda kanama süresini kısaltır (Simon ve ark., 1995); ve endotel ve NO donörleri tarafından üretilen NO, trombositlere difüze olur ve cGMP üretimini uyarır ve trombosit agregasyonunu inhibe eder (Moro ve ark., 1996). İntraplatelet Ca^{+2} depolarının (Trepakova ve ark., 1999) SERCA'ya bağımlı olarak doldurulması ve trombosit sitozolik Ca^{+2} 'nin IP3 ile uyarılmış yükselmesinin engellenmesi ile ilişkilidir (Rao ve ark., 1990). cGMP, trombosit aktivasyonunu en azından üç ek mekanizmayla önler. İlk olarak, dolaylı olarak, fosfodiesteraz tip 3 (PDE 3)'ün inhibisyonuyla hücre içi siklik adenosin monofosfat (cAMP) seviyelerini artırır (Maurice ve Haslam, 1990). İntraplatelet cAMP'nin artması sonucu, cAMP, trombosit agregasyonunu inhibe etmek için cGMP ile birlikte sinerjistik olarak etki eder (Bowen ve Haslam, 1991). İkinci olarak; cGMP, PI3K'nın aktivasyonunu inhibe eder (Pigazzi ve ark., 1999) ve bu da glikoprotein (GP) IIb-IIIa fibrinojen reseptörlerinin aktivasyonuna neden olur (Bowen ve Haslam, 1991). Üçüncü olarak; cGMP, downstream kinaz PKG'sinin etkisiyle, tromboksan A2 (TxA2) reseptörünün fosforilasyonuna neden olarak işlevini inhibe eder (G. R. Wang ve ark., 1998).

NO'nin cGMP'ye bağlı antiplatelet etkilerinin haricinde; NO'nun trombosit fonksiyonunu cGMP'den bağımsız yollarla düzenlediğini gösteren kanıtlar da vardır. Örneğin, S-nitrososistein, S nitrosoglutatyon ve dietilamin diazeniumdiolat ve inhale NO gibi NO donörleri, trombosit agregasyonunu, sGC'nin inhibisyonundan etkilenmeyecek bir dereceye kadar inhibe eder (Tsikas ve ark., 1999; Pawloski ve ark., 1998).

NO'nun Antiinflatuar Etkisi

NO, lökositlerin kan akımından göçünü ve aterogeneze önemli bir adım olan hasarlı endotel hücrelerine adhezyonunu önler (Kubes ve ark., 1991). Wild type fareler karşılaştırıldığında; NOS1, NOS2 veya NOS3 genleri silinmiş olan farelerde endotelde lökosit adhezyonu gözlemlenmiştir (Lefer ve ark., 1999).

NO donörleri, sitokinlerin etkisiyle endotel hücrelerinde indüklenen; monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), vasküler hücre adhezyon molekülü-1 (VCAM-1) gibi adhezyon moleküllerinin endotel hücre yüzeyinde ekspresyonunu inhibe eder; L-NMMA ise artırır. NO'nin bu etkilerine, transkripsiyonel faktör nükleer faktör kappa B'nin (NF kappaB) inhibisyonu ile aracılık etmesi muhtemeldir ve bunun antioksidan özelliklerini içerir (Khan ve ark., 1996). Aslında, HUVEC'de NOS'un inhibisyonu, hücre içi radikal temizleyiciler tarafından inhibe edilen ancak; cGMP analogları tarafından inhibe edilmeyen bir etki olan lökosit adhezyonunu artırır (Niu ve ark., 1994). Kısmen, NF kappaB' nin p50 alt ünitesinin inhibe edici S-nitrozilasyonunun, hücrel aktivitesini düzenlediği; dolayısıyla NO'nun antiinflatuar özelliklerine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Marshall ve Stamler, 2001).

NO'nun Antioksidan Etkisi

Hücrelerde artan oksidatif stres, ateroskleroz patolojisine neden olarak buna bağlı gelişen kardiyovasküler hastalıkların oluşmasına sebep olur. O_2 , güçlü bir oksidan olan ONOO⁻ i oluşturmak için NO ile reaksiyona girebilir (Wolin, 2000). SOD'un fizyolojik konsantrasyonlarının varlığında, SOD'la katalizlenen hidrojen peroksitin oluşumu ile O_2 den ONOO⁻ oluşumu yarışmaya girer. Böylece, NO'nun fizyolojik konsantrasyonları, SOD'un fizyolojik konsantrasyonlarının varlığında antioksidan etkiler ortaya çıkarabilir (Beckman ve Koppenol, 1996). NO'nun en belirlenmiş antioksidan etkisi, pro-aterogenik lipid peroksidasyonunun indirgenmesidir (Yates ve ark., 1992).

Ayrıca; NO, ekstraselüler SOD'un ekspresyonunu indükler. NOS3'ü olmayan farelerin aortlarında, wild-type farelerin aksine; ekstraselüler SOD'un azaldığı bulunmuştur (Fukai ve ark., 2000). SOD, O_2 nin güçlü bir antioksidan olmasına rağmen; hidrojen peroksite dönüşümünü katalize eder ve ayrıca NOS3'ün ekspresyonunu ve aktivitesini artırır (Drummond ve ark., 2000).

NO'nun Ürogenital Sistem Üzerindeki Etkileri

Yapılan çalışmalarda; NO'nun glomerular filtrasyon, renal kan akımı, renin salgılanması, tuz itrahi gibi renal fonksiyonlarda önemli bir mediyatör olduğu kanıtlanmıştır. NO'nun bu etkilerine cGMP aracılık etmektedir. NO'nun renal medullaya kan akımı ve renal sodyum atılımının önemli regülasyonlarında yer alması sebebiyle, NO'nun üretimi ya da salımı ile ilgili sorunlar hipertansiyonla ilişkili olacaktır (Burnett, 1995).

Pelvis içerisindeki fonksiyonlarda NO'nun etkisi olduğu yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır. Habercil bir mediyatör olan NO; sayısız fizyolojik olayda rol oynar. Penil ereksiyon, miktür, erkek dış kanal sisteminin peristalsisi, prostatın kontraktıl özellikleri ve lumbosakral omurilik nörotransmisyonu nitrik oksit tarafından bir dereceye kadar kontrol altına alınabilir fonksiyonlardır. İmpotans, üriner obtrüksiyon, ejakülasyon problemleri NO üretimi ya da aktivitesindeki değişiklikler nedeniyle gerçekleşebilir (Burnett, 1995).

NO ve Diyabet

Diyabette, insülin bağımlı glikozun yağ ve iskelet kaslarına alımının yetersizliği ve uygunsuz glikogenoliz ve glikoneogenezis, plazma glikoz seviyesinin yükselmesine ve hiperglisemiye neden olur ve bu da kalpte reaktif oksijen türleri (ROS) sentezinin artmasını destekler. Diyabetik kalpte ROS üretimini artıran yollar; mitokondrial elektron transport zincirinin sızıntısı, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH oksidaz), ksantin oksidaz ve 12/15 lipooksijenaz (LOX) enziminin aktivasyonunun artması, nitrik oksit sentazın ayrılması (NOS), protein kinaz C (PKC) aktivasyonu ve ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE) ile AGE reseptörleri (RAGE) ile etkileşimidir. Diyabetik durumda bu yollar arasında da etkileşimler olabilir; ROS'un daha da fazla üretilmesine olanak verilmesi sonucu oksidatif stresin artması, diyabetik KVH' a neden olabilir (Faria ve Persaud, 2017).

Kardiyovasküler sistemdeki endotel fonksiyonu, ko-faktör tetrahydrobiopterin (BH4) kullanarak eNOS'un bağlanmasına bağlıdır. eNOS'un fizyolojik bağlanması, eNOS hem grubunun, NO sentezi sırasında BH4 tarafından desteklenen eNOS substratı olan L-arginin ile etkileşimine bağlıdır. BH4, de novo guanozin trifosfattan (GTP) GTP-

siklohidrolaz-I (GTPCH) ile sentezlenir. Oksidatif stres altında, BH₄, eNOS'a bağlanabilen, ayrılması destekleyen ve NO yerine O₂• sentezine neden olabilen 7,8-dihidrobiyopterinine (BH₂) dönüştürülecektir (Crabtree ve ark., 2011). Bu nedenle bu durum, oksidatif strese yol açar (Faria ve Persaud, 2017).

Endotel disfonksiyonun diyabetle ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarla belirgin olarak kanıtlanmıştır. Ayrıca; kronik hiperglisemi ve DM'nin NO üretimi ve aktivitesini bozduğuna dair çalışmalar da mevcuttur (Pfeilschifter, 1995; Avogaro ve ark., 2011).

Diyabet hastalarında, hiperglisemi, ileri glikasyon son ürünlerini (AGEs) stimüle eder ve oksidatif strese neden olabilecek yolları aktive ederek artırır (Brownlee, 2005; Pitocco ve ark., 2010). Aşırı miktarda sentezlenen ROS molekülleri hızlı bir şekilde NO radikalleriyle reaksiyona girer ve peroksinitrit anyonları gibi biyolojik toksik bir anyona dönüşerek doku hasarına neden olabilir (Beckman ve Crow, 1993; Forstermann, 2010).

2.2.Hidrojen Sülfür

Hidrojen sülfür, çürük yumurta kokusu olan, suda çözünebilen, renksiz bir gazdır. H₂S'in tarihi 1700'lü yıllarda İtalyan doktor Bernardino Ramazzini'nin "De Morbis Artificum Diatriba" adlı kitabında kanalizasyon çalışanlarında ağrılı göz tahrişi ve inflamasyonuna neden olan "lağım gazı" olarak tanımlanmasıyla başlar. Sonralarda H₂S olarak tanımlanan gaz, biyolojik rollerinin keşfiyle ilgili 3 farklı yüzyıla yayılmıştır;

- H₂S alanında yapılan ilk çalışmalar, H₂S'yi mitokondriyal solunumu inhibe eden çevresel toksik bir gaz olarak ifade etmektedir.

-1900'lü yıllarda başlayan bakteriyoloji çalışmalarında; periodontal hastalıkların fizyolojinde bakteriyel bir ürün olarak tanımlanmıştır. Hatta barsak bakteri florasında, antibiyotiklere karşı bakteriyel direncin regülasyonunda rol aldığı bulunmuştur.

-1940'lı yıllarda memeli enzim sistemlerinde varlığı tanımlanmış, kardiyoloji ve sinir sistemlerinde araştırma konusu haline gelmiştir.

NO'ya benzer şekilde, H₂S bir vasodilatasyon aracıdır. H₂S'nin vazodilatör özelliklerini gösteren ilk çalışma 1997 yılında yayınlanmıştır (Hosoki ve ark., 1997). Bu öncü

makalede, yazarlar H₂S donörlerinin kendileri tarafından vasorelaksasyonu indüklediğini ve sıçan torasik aortunda NO vericinin neden olduğu damar gevşemesini potansiyel olarak uyardığını ve NO ile H₂S arasında olası bir etkileşimin ilk ipuçlarını verdiğini göstermişlerdir (Hosoki ve ark., 1997).

2.2.1. Hidrojen Sülfürün Sentezi

Memeli dokularında, enzimsel yollar (trans-sülfürasyon yolağı) vücuttaki H₂S'nin çoğunu oluşturmaya rağmen, H₂S hem enzimatik hem de enzimatik olmayan yollarla üretilmektedir. Damarlarda H₂S üretimi hem endotel hem de düz kas hücrelerinde eksprese edilen farklı enzimler tarafından sağlanmaktadır. Bu iki üretim lokasyonu, H₂S'nin NO'nun biyosentezinden ana farkını göstermektedir; NO; sadece endotelyum içinde eNOS tarafından üretilmektedir (Faria ve Persaud, 2017).

Sistatyon-beta-sentaz (CBS)

Sistatyonin β sentaz (CBS) en iyi karakterize H₂S üreten enzimdir ve bu protein MSS'deki ana H₂S kaynağı olarak kabul edilmektedir (Abe ve Kimura, 1996; Eto ve Kimura, 2002; Miles ve Kraus, 2004). Bununla birlikte, aynı zamanda damarlar da dahil olmak üzere periferik dokularda yüksek oranda eksprese edilmektedir (Hosoki ve ark., 1997; Fiorucci ve ark., 2006; Zhang ve ark., 2007; Szabo ve ark., 2013; Bucci ve ark., 2014; Vellecco, Mancini, ve ark., 2016).

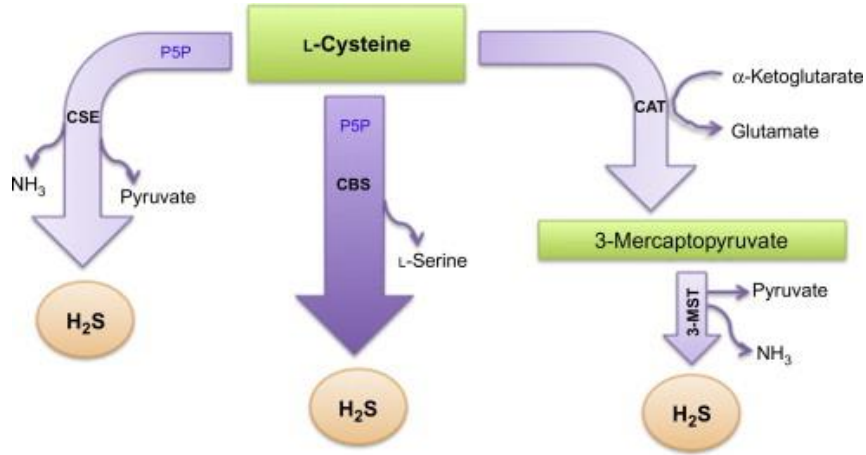
Sistatyon-gama-liyaz (CSE)

Bir başka enzim olan sistatyonin γ liyaz (CSE veya CGL veya CTH), vasküler sistemde ana H₂S üreten enzimdir ve hem endotel hem de düz kas hücrelerinde bulunmaktadır. Bununla birlikte, CSE ekspresyonuna vasküler düz kas olmayan kaslarda ve iskelet kasında da saptanmıştır (W. Zhao ve ark., 2001; Fiorucci ve ark., 2006; Bucci ve ark., 2012; Vellecco, Mitidieri, ve ark., 2016).

3-Merkaptopiruvat Sülfürtransferaz (3-MST)

Diğer iki H₂S üreten enzim, 3-merkaptopiruvat sülfür transferaz (3-MST) ve sistein aminotransferaz (CAT) endotelyumda eksprese edilmektedir. Bununla birlikte 3-MST, düz kas ve diğer non-vasküler dokularda da bulunmaktadır (Nagahara ve ark., 1998; Shibuya ve ark., 2009; Modis ve ark., 2013; Vellecco, Mitidieri, ve ark., 2016).

CBS, CSE ve CAT, substrat olarak amino asit L-sistein ve kofaktör olarak piridoksal 50 fosfat (PLP) gerektirmektedir. 3MST için substrat 3-merkaptopiruvattır ve bu enzim PLP'den bağımsız değildir. L-sistein substratı diyetle alınarak veya endojen proteinden ayrılmasıyla türetilmektedir. Trans-sülfürasyon yolundan L-metioninden başlanarak endojen olarak da sentezlenebilmektedir. NO'nun aksine H₂S vücut sıvılarında nispeten stabildir, fakat NO ile ortak olarak, hemoglobin tarafından temizlenebilmektedir. H₂S ayrıca metillenebilir veya oksitlenebilmektedir. H₂S; serbest sülfat, tiyosülfat veya serbest sülfür olarak idrar ve flatus atılmaktadır ve ayrıca nefesle verilmektedir (Wallace ve Wang, 2015). Bu son özellik, sağlıklı insan gönüllülerde ve sıçanlarda intravenöz sodyum sülfür uygulamasının ardından dışarı verilen H₂S 'nin tespit edilmesinin mümkün olduğu ve böylece H₂S'nin bir atılım yolu olarak ekshale edilen H₂S'yi teyit edebileceği anlamına gelmektedir (Toombs ve ark., 2010).



Şekil 2. H₂S'in sentez yolları

2.2.2.Hidrojen Sülfürün Genel Özellikleri

H₂S'nin vazodilatör aktivitesi için tanımlanan ilk moleküler hedef K_{ATP} kanallarıdır (W. Zhao ve ark., 2001). Bu çalışmada, H₂S ile indüklenen vazodilatasyon, K_{ATP} kanallarının selektif bir inhibitörü olan glibenklamit tarafından spesifik olarak inhibe edilmiştir. Vasküler düz kas hücrelerinde, K_{ATP} kanal akımları ve membran potansiyeli üzerine H₂S'nin doğrudan etkisi gösterilmiştir (W. Zhao ve ark., 2001). Çünkü, o zaman, CSE ekspresyonu endotelde görülmemiş; sadece düz kas hücrelerinde tespit edilmiştir (W. Zhao ve ark., 2001), yazarlar düz kas hücrelerinde H₂S'nin selektif bir rolü olabileceğini

önermişlerdir. İlk yıllarda, literatürde yer alan bilimsel sonuçlar, Hosoki ve yazarların önerdiği gibi NO ve H₂S sinyalleme arasındaki bir etkileşimin orijinal hipotezini desteklememiş, bunun yerine bir katkı maddesi veya alternatif damar genişletici etkinin olduğu hipotezini sağlamıştır. Başka bir deyişle, endotel kaynaklı NO ve düz kas hücresi aracılı H₂S olan her iki gasotransmitterin sinerji içinde çalışması, vazodilatör sürecin meydana gelmesine katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte, 1990'larda eNOS -/- farelerin üretimi, kan basıncının kontrolünde endojen bir aracı olarak NO'nun birincil rolünü kesin olarak belirlemiştir (Stauss ve ark., 1999).

2.2.3.Hidrojen Sülfürün Fizyolojik ve Farmakolojik Etkileri

H₂S, sinir sisteminin regülasyonunda, kardiyovasküler fonksiyonlarda, inflamatuvar yanıtlarda, gastrointestinal sistem ve renal yanıtlarla ilişkili endojen olarak üretilen gas halinde bir nörotransmitterdir. Bilim insanları yıllar boyunca H₂S'nin biyokimyasını, sinyal mekanizmalarını ve fizyolojisini anlamak için çalışmalar yapmışlardır (Beltowski, 2015).

H₂S donörlerinin de arteriyal ve pulmoner hipertansiyon, ateroskleroz, iskemi-reperfüzyon hasarı, akut ve kronik inflamatuvar hastalıklar, Parkinson ve Alzheimer hastalığı ve erektil disfonksiyon gibi hastalıklarda terapötik potansiyelinin olduğu kanıtlanmıştır. Mevcut H₂S donörleri: İnorganik sülfid tuzları, organik yavaş salımlı H₂S donörleri, H₂S salımına aracılık eden non-steroidal antiinflamatuvarlar, sistein analogları, sarımsak içerisinde bulunan polisülfidlerdir. Ayrıca; H₂S halen kullanılmakta olan pek çok ilaç tarafından da regüle edilmektedir; fakat H₂S'in bu regülasyonlarda nasıl bir etki mekanizmasının olduğu ve ne gibi farklı klinik etkilere sebep olabileceği devam eden araştırmaların konusudur (Beltowski, 2015).

H₂S'nin Santral Sinir Sistemi Üzerindeki Etkileri

Bazı fizyolojik koşullarda beyinde H₂S miktarının fazla olduğu bilinmektedir.

Aşağıda belirtilen durumların, CBS ile ilişkili endojen H₂S üretimini artırdığını doğrulamıştır:

- H₂S'nin üretimine aracılık eden CBS enzimi hipokampusta yüksek oranda eksprese edilir.

-CBS inhibitörü olan hidroksilamin ve aminoksiasetat beyinde H₂S üretimini baskılar.

-Ayrıca CBS aktivatörü olan S-adenozil-L-metiyonin H₂S üretimini artırır.

Aynı zamanda; H₂S'in fizyolojik konsantrasyonlarının NMDA reseptörüne selektif olarak aracılık ederek hipokampal uzun vadeli güçlenmeyi geliştirdiği bilinmektedir (I).

Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi farklı santral sinir sistemi hastalıklarının patofizyolojisinde de H₂S metabolizmasının bozukluğuna rastlanmıştır. İnme geçiren hastalarla ilişkili yapılan bir çalışmada H₂S metabolizması inmeyle ilişkili bulunmuş ve H₂S inhibisyonunun inmeli hastaların tedavisinde terapötik bir yaklaşım olabileceği öngörülmüştür (Wong ve ark., 2006).

H₂S'nin Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri

Vasküler Tonus

H₂S'nin damarlardaki primer etkisi vazodilatasyondur (Li ve ark., 2011; R. Wang, 2012; Kimura, 2014). Bununla birlikte; H₂S'nin damarlardaki vazodilatör etki mekanizmasına dair çelişkili sonuçlar gösterilmiştir. Bu tutarsızlıkları çözmek için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulduğu çok açıktır.

H₂S bağlantılı vazodilatasyon yollarında, insan mikro damarlarında NOS ve siklooksijenaz aktivasyonu görülmüştür (Kutz ve ark., 2015). NaHS ve Na₂S 'nin kemirgen düz kas hücrelerinde cGMP seviyelerini arttırdıkları bilinmektedir (Bucci ve ark., 2012; Bucci ve ark., 2014). PKG-I knock out farelerde fare aortundaki sülfid tuzunun neden olduğu gevşemenin, cGMP' ye bağlı bir PKG-I inhibitörü olan DT2 aracılığıyla inhibe edildiği fare aortunda gösterilmiştir (Bucci ve ark., 2012). Bununla beraber tüm H₂S donörleri NO/cGMP yolağını kullanarak damar gevşemesine sebep olmamaktadır. Örneğin sığır silier arterinde yavaş salınan H₂S donörü GYY4137'in vazorelaksan yanıtının nitro-1-arginin metil ester (L-NAME) ile engellenmediği, aynı H₂S donörünün fare aortunda DT-2 ile de inhibe edilmediği görülmüştür (Bucci ve ark.,

2012). Bu yüzden, hem endojen hem ekzojen H₂S'nin çoklu ikincil mesajcı sistemlerle damar düz kasında gevşeme yanıtına neden olacağı bilinmektedir.

Belli koşullar altında, H₂S'nin düz kasın kasılmasını artırabileceği durumlar da bulunmuştur. Farenin mezenterik arteriyal yatağında H₂S'nin düşük konsantrasyonda kasılmayı artırırken; yüksek konsantrasyonlarda gevşemeyi artırdığı görülmüştür (d'Emmanuele di Villa Bianca ve ark., 2011). Kasılmalara neden olan düşük H₂S konsantrasyonları ve gevşemeye neden olan yüksek H₂S konsantrasyonlarına dair benzer çalışmalar, fare aortunda (Tang ve ark., 2013), sıçan gastrik arterinde (Kubo ve ark., 2007) gözlemlenmiştir. H₂S'nin dirençli arterleri gevşetme yeteneğinin haricinde, fizyolojik seviyelerde ortalama arter kan basıncının korunmasına katkıda bulunduğu ve H₂S üretiminin farmakolojik inhibisyonunun arteriyal kan basıncını artırdığı gösterilmiştir (W. Zhao ve ark., 2003; Roy ve ark., 2012).

Vasküler Geçirgenlik

Endotelial hücreler, kan ve alt dokular arasında bariyer görevi görür (Amado-Azevedo ve ark., 2014). Kapillerde, sürekli devam eden, kan ve interstisyel doku arasında sıvı değişimleri vardır. Bazal geçirgenlik, doku homeostazı, hiper-geçirgenlik gibi pek çok patolojik ve patofizyolojik süreçlerle ilişkili olduğu gibi; aynı zamanda doku remodelingi, inflamasyon ve tümorojenesis ile de ilişkilidir (Bazzoni ve Dejana, 2004; Amado-Azevedo ve ark., 2014). Kardiyak arrest oluşturulan farelerde yapılan bir çalışmada, H₂S inhalasyonun, kan-beyin bariyeri geçirgenliğini azalttığı rapor edilmiştir. H₂S'nin bu etkisi; VEGF'nin ve matrix metalloproteinaz-9 (MMP-9)'un azalmış ekspresyonuna ve geçirgenliği azaltan büyüme faktörü angiopoietin-1'in ekspresyonunun artmasına bağlanmıştır. Başka bir çalışmada, NaHS'in solunması ile tetiklenen akciğer endotel bariyer geçirgenliğindeki artışı azalttığı gösterilmiştir (T. Wang ve ark., 2012). Yapılan çalışmada, H₂S'nin koruyucu aktivasyonu ROS kaynakları ve Akt aktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmalardan, H₂S'nin damar geçirgenliğini azalttığına dair bir sonuç ortaya çıkmıştır ve bu durumun H₂S'nin antioksidan ve antiinflamatuvar mekanizmalar aracılığıyla dolaylı yoldan olduğu düşünülmektedir. Ayrıca; H₂S, iskemi-reperfüzyon yaralanmalarında koruyucu olarak gösterilmiştir (Bir ve ark., 2012; Polhemus ve Lefter, 2014; Bibli ve ark., 2015).

Anjiyogenez

Sağlıklı insan vücudundaki endotel hücreler pasif halde bulunurken; patolojik koşullarda ya da doku hasarı durumlarında yeni kan damarları oluşturma yeteneğine sahiptirler (Carmeliet, 2003). Bu tip aktivasyonlardan sonra endotel hücrelerin yara iyileşmesine ya da dokuların remodelingine katkıda bulunduğu bulunmuştur (Adams ve Alitalo, 2007). Anjiyogenezin arttığı durumlar aynı zamanda; psöriyazis, artrit, diyabetik retinopati ve kanserde de görülmüştür (Carmeliet, 2003; Ferrara ve Kerbel, 2005; Folkman, 2007). Endotel hücrelerdeki yanıtlarda, proliferasyon, migrasyon ve hücresel ağ oluşturma yanıtlarının çok önemli rolleri olduğu iyi bilinmektedir (Carmeliet, 2005). Bu yanıtlarda; aynı zamanda endotel kaynaklı maddelerin ne derecede etkili olabileceği de in vivo olarak araştırılmıştır. Bazı laboratuvarlarda H₂S'in endotel hücre büyümesini, motilitesini ve damar yapılanmalarında stimüle edici bir madde olduğu in vitro çalışmalarda doğrulanmıştır.

Ayrıca, in vitro olarak endotel hücrelerde H₂S üretimi için çeşitli substratlarla (CSE / CBS için sistein ve 3MST için 3-mercaptopiruvat) inkübe edildiğinde; CSE'nin aşırı ekspresyonuyla, endotel hücre büyümesini artırdığı görülmüştür (Coletta ve ark., 2012; Altaany ve ark., 2013). Ayrıca, H₂S biyosentezinin inhibe edilmesiyle ya da CSE, CBS ve 3-MPST enzimlerinin susturulmasıyla büyüme, migrasyon ve hücresel ağ oluşturma yanıtlarının azaldığı görülmüştür (Papapetropoulos ve ark., 2009; Coletta ve ark., 2012; Altaany ve ark., 2013; Coletta ve ark., 2015; Saha ve ark., 2016). Tüm bu veriler, endojen ya da eksojen olarak gerçekleşen H₂S üretiminin proanjiyogenik olduğunu kanıtlamıştır.

Antioksidan Etki

Artan oksidatif stres, hipertansiyon, ateroskleroz, ve vasküler diyabetik komplikasyonları da artırmaktadır. H₂S'nin ROS üretimini inhibe ettiği, aynı zamanda, antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırdığı çalışmalarda gösterilmiştir (Predmore ve ark., 2012; Szabo, 2012; Ono ve ark., 2014; Xie ve ark., 2016). H₂S'nin damar duvarlarında oksidatif stresle ilişkili pek çok durumu etkisiz hale getirmesi beklenmiştir. Anj-II ile hipertansif hale getirilmiş farelere, H₂S analogu olan NaHS uygulanmasıyla birlikte; aortta oluşan NADPH bağımlı süperoksit oluşumunun azaldığı ve ACh kaynaklı

gevşemenin iyileştiği görölmüştür (Al-Magableh ve ark., 2015). Aynı zamanda, yüksek glikozla inkübe edilmiş endotelial hücrelerdeki H₂S'nin, ROS seviyelerini azaltarak, apoptozu ve endotelial hücre hasarını engellediği gösterilmiştir (Guan ve ark., 2012; Gero ve ark., 2016).

H₂S'nin Gastrointestinal Sistem Üzerindeki Etkileri

H₂S'nin gastrointestinal sistemin önemli bir mediyatörü olduğu, mukozal savunmadaki önemi, doku hasarının azalması ve inflamasyonun giderilmesindeki önemli katkılarından dolayı anlaşılmıştır (Chan ve Wallace, 2013). H₂S sentezinin, mukozal yaralanma sonra belirgin derecede arttığı ve H₂S inhibisyonunun doku iyileşmesinin gecikmesine ve inflamasyonun daha da alevlenmesine yol açtığı bilinmektedir. H₂S'nin faydalı olan gastrointestinal yan etkileri, mukozal kan akışının artması, lökosit adhezyonu engellemesi ya da anjiyogenez stimülasyonuna sebep olmasına bağlanmaktadır. H₂S'yi artıran ajanlar ya da H₂S inhibitörleri, gastrointestinal doku hasarı ve inflamasyon durumunda H₂S'nin ne kadar önemli olabileceğini ortaya koymuştur.

Gastrointestinal sistemde H₂S'nin varlığı öncelikle gastrik mukozada CBS ve CSE enzimlerinin bulunmasıyla anlaşılmıştır (Chan ve Wallace, 2013). İmmünohistokimyasal yöntemlerle de kolonda varlığı anlaşılmıştır (Linden ve ark., 2008).

Asetilsalisilik asit ve NSAİİ ilaçların H₂S ve enzim ekspresyonlarını azalttığı gözlemlenmiş ve bu etki H₂S donörüyle geri döndürölmüştür. Mukozal hasar ve kan akımı düzelmiştir (Fiorucci ve ark., 2005).

H₂S'nin Ürogenital Sistem Üzerindeki Etkileri

H₂S ve H₂S sentezleyen enzimlerin memelilerin alt üriner yollarında bulunduğu gösterilmiştir (Gai ve ark., 2013). H₂S'nin sıçan mesane düz kasında derişime bağlı olarak kasılmayı indüklediği (Patacchini ve ark., 2004) ve domuz ureter ve mesane boynunda düz kas gevşemesi yaptığı (Fernandes ve ark., 2013), kobay ve sıçan mesanesinde detrusitora bağımlı kasılma yanıtının arttığı bulunmuştur (Patacchini ve ark., 2005).

İnsan prostat doku ve hücrelerinde, endojen H₂S ve sentez enzimleri CBS ve CSE'nin varlığı gösterilmiş ve H₂S'nin benign prostat hiperplazisi ve prostat kanseri gibi hastalıklarda bazı etkiler oluşturabileceği düşünülmüştür (Guo ve ark., 2012).

Hem CBS hem de CSE, insan korpus kavernosumunda eksprese edilmektedir ve eksojen H₂S'nin, izole insan korpus kavernosumunda, endotelden bağımsız olarak gevşeme yaptığı bilinmektedir. Bu gevşeme yanıtının, H₂S'nin cGMP üzerinden fosfodiesteraz-5 (PDE-5) aktivitesini inhibe etmesiyle olduğuna ilişkin güçlü kanıtlar bulunmaktadır. Tüm bu bulgular korpus kavernosum homeostazında H₂S yollarının önemli role sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, PDE-5 inhibitörü sildenafilin mesane gevşetici etkisinde, H₂S'nin mediyatör olduğu bulunmuştur.

2.3.Heparin

Heparin, tromboembolik hastalıkların tedavisinde ve profilaksisinde gerekliliğinden dolayı dünyada en sık kullanılan ilaçtır. İki çeşit heparin vardır: Standart heparin olarak bilinen *fraksiyonel olmayan heparin* (unfractionated heparin (UFH)) ve *düşük molekül ağırlıklı heparin* (low molecular weight heparin (LMWH)). LMWH, bazı ilaçların bir grubudur: Enoksaparin, dalteparin, nadroparin, tinzaparin, certoparin (Hirsh ve Raschke, 2004). LMWH, daha az kanama sonuçlarına neden olduğu ve tromboembolitik komplikasyonların azaltılmasında daha az etkili olduğu için LMWH tedavisi son zamanlarda UFH tedavisinin yerini alabileceği savunulmaktadır (Barrera ve ark., 2013; Alikhan ve ark., 2014). Ancak LMWH ajanlarının etkinliklerine dair endişeler olması sebebiyle, klinikte ilk tedavi basamağı olarak UFH tercih edilmektedir (Samama ve ark., 1988; Quinlan ve ark., 2004).

Hem arterlerde hem de venlerde kanın pıhtılaşmaması için UFH kullanılmışsa da günümüzde venöz tromboemboliye ve atrial fibrilasyonda oluşacak pıhtılaşmaya karşı tercih edilmektedir (Hirsh ve Buchanan, 1991; Hirsh ve ark., 2001). Kardiyak iskemisi olan hastalarda UFH, akut koroner sendrom patogenezinde trombin üzerindeki rolünden dolayı, klinikte öncelikli olarak önerilmektedir (Ryan ve ark., 1996). Koroner anjiyografi, perkütan koroner girişim, kardiyopulmoner by-pass gibi ameliyat durumlarında da hastalara UFH verilmiştir (Seltzer ve Gerson, 1979; Arjomand ve ark., 2002). Kanın pıhtılaşmasının önlenmesinde pek çok kullanım alanı olmasına rağmen,

UFH'nin farmakolojik etkilerinin hepsi tam olarak aydınlatılamamıştır. UFH'nin antikoagulan etkilerinin haricinde vasküler etkilerinin de olabileceği rapor edilmiştir (Mandal ve ark., 1995). Kronik UFH uygulanan hipertansiyon hastalarında ve çeşitli fare modellerinde, kan basıncının düştüğü bildirilmiştir (Sealey ve ark., 1967; Wilson ve ark., 1981). Açık kalp ameliyatında UFH uygulamasının tesadüfen sistemik kan basıncını belirgin derecede düşürmesi, UFH'nin vasomotor yanıtlarda da değişimlere neden olabileceğini düşündürmüştür (Cathely ve ark., 1990). Bir başka çalışmada ise; intarinal mammarian artere heparin uygulandığında, konsantrasyona bağlı vazodilatasyon görülmüştür ve bu yanıtın nitrik oksit ve endotel bağımlı hiperpolarizan faktör (EDRF) aracılığıyla olabileceği gösterilmiştir (Tasatargil ve ark., 2005).

Heparin, koagülasyon kaskatında serin proteazları inhibe ederek etki oluşturan bir ajandır, öncelikli olarak venöz tromboemboli, atrial fibrilasyona bağlı trombüs oluşumu ve pulmoner tromboemboli oluşumunu azaltmak için kullanılıyor olsa da, perkutanöz koroner girişimlerden sonra koroner arterlerde pıhtı oluşumunu azaltmak için de antiagregan ilaçlara ek olarak, bazı gebelerde artan tromboemboli riskine karşı, kemik kırıklarının takiben, yatalak hastalarda, uzun süre hareket edemeyecek, örn; alçılı bacak gibi, vb. durumlarda sıkça kullanılmaktadır.

Heparin, antikoagulan etkisinin yanında damarlarda endotel aracılı gevşeme oluşturduğuna ilişkin veriler vardır (Tangphao ve ark., 1999). Antiagregan ve antikoagulan ilaçların kullanımı yaşla orantılı olarak ileri yaşlarda daha yoğun olmaktadır (Montagnana ve ark., 2010). Yaşa bağlı olarak farklı hastalıkların birlikte görülme sıklığında ve çoklu ilaç kullanımında da artış olmaktadır. Diabetes Mellitus, kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı gibi hastalıklar sıklıkla yaşlı popülasyonlarda birlikte görünmektedir, bu gibi durumlarda hastalıklardan birini tedavisinde kullanılan bir ilacın diğer hastalıklar üzerine olumlu/olumsuz etki oluşturma ihtimali görülmektedir.

Heparin dışında koagülasyon kaskadını etkileyen warfarin, rivaroxaban, dabigatran, apixaban, edoxaban, enoxaparin, fondaparinuxun gibi farklı ajanlarda bulunmaktadır (Ramagopalan ve ark., 2019). Venöz tromboemboliyi önlemede bu ajanlardan herhangi biri seçilebilir, yine de bu ajanların kardiyovasküler hastalıklarda da antikoagulan

etkiden bağımsız şekilde etkili olduklarının gösterilmesi, ilacın ön plana çıkmasına neden olacaktır. Bu ajanlardan bazılarının damar fonksiyonunu düzeltme ve korumada etkili olduğu gösteren kanıtlar bulunmaktadır (Kim ve ark., 2016).

Örneğin koagülasyon yolundaki faktör Xa inhibitörü olan edoksabanın venöz tromboemboli oluşumunu önlemedeki etkisinin olduğu, bu etkide edoksabana nedeniyle görülen hidrojen sülfür artışının da rolü olduğu gösterilmiştir (Song ve ark., 2017). Fakat diğer ajanlar için böyle bir veri bulunmamaktadır. Peki neden damar gevşeme yanıtının neden H₂S aracılı olup/olmadığını araştırmak önemli: Başlangıçta da değinildiği gibi çoklu hastalık, çoklu ilaç kullanımı ilerleyen yaşlarda artmaktadır. Bu hastalıklar arasında diyabet ile kardiyovasküler hastalıkların birlikteliği, diyabete bağlı hipertansiyon, koroner arter hastalığı ve kalp yetmezliğinde artış görülmektedir. Bu artışlarda endotel fonksiyonunun özellikle NO-sGMP yolağının, bozulmasının esas etken olduğu kabul edilmektedir. H₂S ise NO-sGMP yolağı bozulduğunda, tıpkı yukarıdaki durumlar gibi, damar yanıtlarında daha fazla etki oluşturmaktadır. Yani patolojik durumlarda ortaya çıkan yedek bir mekanizma denilebilir.

Literatürde, Diabetes Mellitus gibi endotelial fonksiyonların bozulduğu durumlarda H₂S uygulanmasının oluşacak mikrovasküler komplikasyonları azaltabileceğine ilişkin çalışmalar bulunmaktadır. Hidrojen sülfürün, diyabet gibi durumlarda bozulan NO-sGMP yolağı nedeniyle azalan endotel fonksiyonunu nedeniyle oluşan vazokonstriksiyonu/iskemiye düzeltten bir mediyatör olduğu düşünülmektedir (Cheng ve ark., 2018).

Diyabetten bağımsız şekilde oluşturulan iskemide de düzenli olarak uygulanan hidrojen sülfürün damarlar üzerinde fonksiyonel olarak koruyucu etki oluşturduğunu gösteren çalışmalar vardır (Rushing ve ark., 2019).

Hidrojen sülfür çeşitli patolojik koşullarda NO yolağının fonksiyonunu düzeltmektedir. Hidrojen sülfürün damar endoteli için bir yedek koruyucu mekanizma olduğu söylenebilir (Szabo, 2017).

Bunların dışında hidrojen sülfürün trombosit agregasyonunu inhibe ettiği, bu etkinin aspirin gibi antiagregan ilaçların etki mekanizmalarında yeri olabileceği gösterilmiştir (Atiq ve ark., 2015).

Aspirin gibi, antiagregan ajanların H₂S miktarını artırıyor olması sadece antiagregan etki açısından değil, H₂S'in önceden de değinilen endotel koruyucu etkisi ve bunun sonucu olarak kardiyovasküler hastalıklar üzerine de olumlu etki oluşturacaktır. Plazma H₂S düzeylerinin düşüklüğünün MI'da enfarkt alanının genişliğini ve ölüm olasılığını artırdığına ilişkin çalışmalar da bulunmaktadır (Zhu ve ark., 2007).

Ratlarda deneysel olarak oluşturulan MI'da H₂S uygulanmasının, MI sonrası hasarı azalttığına ilişkin çalışmalar vardır (Elrod ve ark., 2007; Sivarajah ve ark., 2009). Myokardial ve dolaşımdaki H₂S düzeylerinin deneysel olarak oluşturulan kalp yetmezliğinde azaldığı gösterilmiştir (Kondo ve ark., 2013). Doksorubisinle oluşturulan kalp yetmezliğinin ekzojen H₂S ile önlenildiği gösterilmiştir. Kalp yetmezliği modelinde ekzojen uygulanan H₂S'in inflamatuvar

sitokin üretimini azaltıp, kardiyak fonksiyonları koruduğu ve kardiyak fibrozisi azalttığı ve bunların sonucunda kardiyak hipertrofi ve kalp yetmezliğinin azaldığını gösteren çalışmalar vardır (Nishida ve ark., 2012; Pan ve ark., 2013). Ayrıca azalmış CSE (H₂S üretimi için gerekli enzimlerden bir tanesi) aktivitesine bağlı azalan H₂S düzeyiyle atheroskleroz oluşumu arasında ilişki gösterilmiştir (Mani ve ark., 2014). Diğer taraftan, antikoagülan yolakta ise sadece edoksabanın H₂S ile ilişkisi çalışılmıştır. Antikoagülanlar arasından hangisinin hidrojen sülfür düzeylerini değiştirerek de etki oluşturduğunun bilinmesi, bu ajanların oluşturacağı kardiyovasküler avantajları nedeniyle tercih edilmesini sağlayabilir. Bu nedenle projemizde yaygın bir şekilde kullanılan heparinin bilinen damar gevşetici etkisinde H₂S'in rolü araştırılmak istenmektedir (Y. Wang ve ark., 2009).

Farelerde yapılan bir çalışmada H₂S uygulanmasının derin ven trombozunu inhibe ettiğini göstermiş olması (ven trombozu ağırlıklı olarak koagülasyon kaskadı aracılığıyla gerçekleşmektedir) heparinin oluşturacağı etkide de H₂S'in rolü olabileceğini düşündürmektedir (Gang ve ark.,2016).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deneysel Model ve Kullanılan Gereçler

20 adet 9-12 haftalık Wistar türü sıçandan elde edilen torasik aortalar 4°C'de 5% CO₂ ve 95% O₂ ile gazlanmış Kreb's solüsyonu içeren petri kabıyla laboratuvara taşınmıştır. 3-4mm uzunluğunda preparatlar hazırlanmıştır. Preparatlar 37 °C'de 5% CO₂ ve 95% O₂ ile gazlanmış aşağıdaki içeriğe sahip Krebs solüsyonu ((mM): Distile su içinde NaCl 118.4, KCl 4.7, MgSO₄ H₂O 1.2, KH₂PO₄ 2H₂O 1.2, NaHCO₃ 25, CaCl₂ 2.5 ve glikoz 11.1.) içeren 4 adet organ banyosuna asılıp, önceden belirlenen submaksimal gerilim altında (submaksimal gerilim, doku organ banyosuna asıldıktan sonra 1,0-2,5 g arası gerilim her seferinde 250mg artırılarak uygulanmış, her seferinde doku dinlendirildikten sonra 20 mM KCl solüsyonuyla kasılması sağlanmıştır, maksimum kasılmanın olduğu gerilimin bir alt gerilimi deneyde kullanılacak submaksimal gerilim olarak kabul edilmiştir) her 15 dakikada bir defa yıkanıp 60 dakika dinlenmesi sağlanmıştır.

3.2. Deney Protokolü

Deneylerin ilk aşamasında asılan damar preparatları endotel sağlamlılığını belirlemek için 10⁻⁶M fenilefrin (FE) ile kasılıp, dokunun gerilimi platoya ulaşıncaya, 10⁻⁶ M asetilkolin ile gevşeme yanıtları elde edilmiştir. Gevşeme yanıtları kasılmanın %60 veya daha üstündeyse endotel var (sağlam), altındaysa, endotelsiz olarak kabul edilmiştir. Deneyler sırasında 10⁻⁶ M FE ile 750 mg'dan daha düşük bir gerilim elde edilirse o preparat deneylere dahil edilmemiştir.

Deneylerin ikinci aşamasında endoteli sağlam ve endotelsiz preparatlarda gevşetici yanıtlar incelenmiştir. Endotelsiz preparatlarda da hidrojen sülfürün etkisinin bakılması literatürde direkt düz kas aracılı gevşeme mekanizmalarının olabileceğinin belirtilmiş olmasındandır. Bu amaçla fenilefrin ile önkasılma oluşturulan abdominal aorta halkalarının, yapısal ve indüklenebilir nitrik oksid sentaz (NOS) izoformlarının blokörü olan N ω -nitro-L-arginin metilester (L-NAME, 10⁻⁴ M) ile 20 dk, siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10⁻⁵ M) ile 20 dk ve bu iki ajanın kombinasyonları ile 20 dk inkübasyon öncesinde ve sonrasında fraksiyonel olmayan heparinin (0,5-8U/ml) konsantrasyon-yanıt eğrileri kaydedilmiş ve bu şekilde heparinin oluşturacağı gevşetici etkide nitrik oksit yolağının etkisi gözlemlenmiştir. Ayrıca oluşan gevşeme yanıtlarında

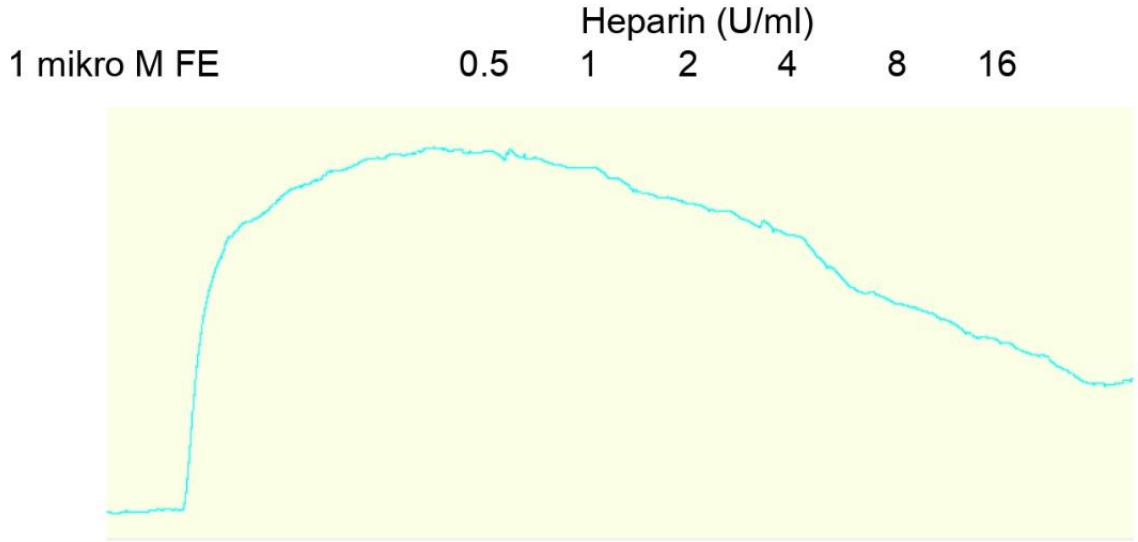
endotel bağımlı hiperpolarizan faktör (EDHF)'nin rolünü araştırmak için L- NAME (10^{-4}) ve indometazin (10^{-5} M) varlığında büyük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum (BKCa) kanal blokörü karibdotoksin (10^{-7} M) + küçük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum (SKCa) kanal blokörü apamin (10^{-7} M) kombinasyonu ile 30 dakika inkübasyon öncesi ve kümülatif heparin konsantrasyonlarıyla gevşeme yanıtlarının değişimi belirlenmiştir. Çalışmanın diğer bir kısmında H₂S synthesis inhibitor, amino-oxyacetate (AOAA-(2×10^{-3} M)), 30 dakikalık inkübasyonu öncesi ve sonrasında heparinin (0,5-6U/ml) konsantrasyon-yanıt eğrileri kaydedilmiş, benzer şekilde L-NAME, indometazin, apamin/karibdotoksin'in farklı kombinasyonlarının yanına AOAA ekleyip 30 dakika inkübasyon sonrasında FE ile kasılmış damar preparatında tekrar heparinin kümülatif konsantrasyonlarıyla gevşeme yanıtları alınıp, karşılaştırılmıştır. Bir gruba L-sistein (100 mikromolar), diğer gruba L-sistein (100 mikromolar) + Glibenklamid (100 mikromolar) 20 dakika inkübe edildikten sonra 10^{-6} M Fenilefrin (FE) ile kasılan preparat, plato fazına ulaştıktan sonra fraksiyonel olmayan heparin kümülatif olarak 0.5, 1, 2, 4, 8 ve 16 U/ml olacak şekilde organ banyosuna eklenmiştir. Sonuçlar herhangi bir şey inkübe edilmemiş üçüncü grubun sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır.

3.3.İstatiksel Analiz

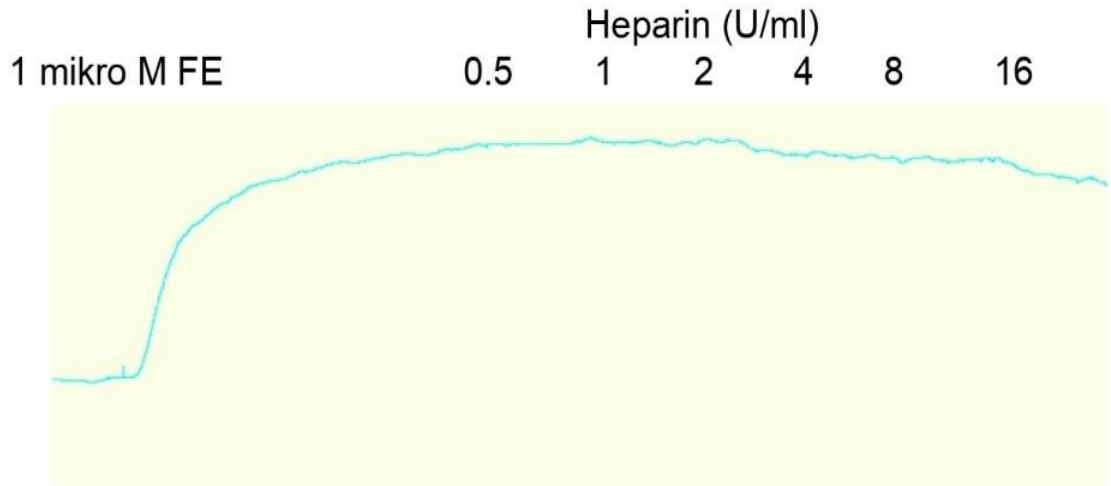
Sıçanların her birinden alınan abdominal aortalardan mümkün olduğu kadar fazla halka elde edecek şekilde hesaplamalar yapıp gereken sıçan sayısı düşürülmüştür. Her bir deney grubundaki her aşama en az 7 abdominal aorta halkasında gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama \pm SH olarak verilmiştir. Gevşeme yanıtları oluşan kasılmanın yüzdesi olarak verilmiştir. İstatistiksel analizler tekrarlayan ölçümler için ANOVA ve Student t testi ile, post-hoc testler Tukey testi ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

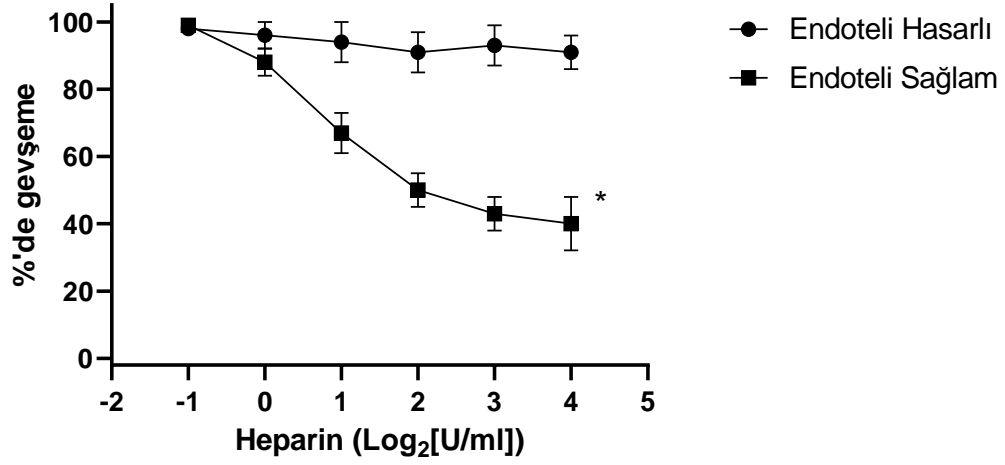
4.1.Heparinin Endoteli Sağlam ve Hasarlı Damar Preparatındaki Gevşetici Etkisi



Şekil 3a. Heparinin endoteli sağlam damar preparatındaki gevşetici etkisi



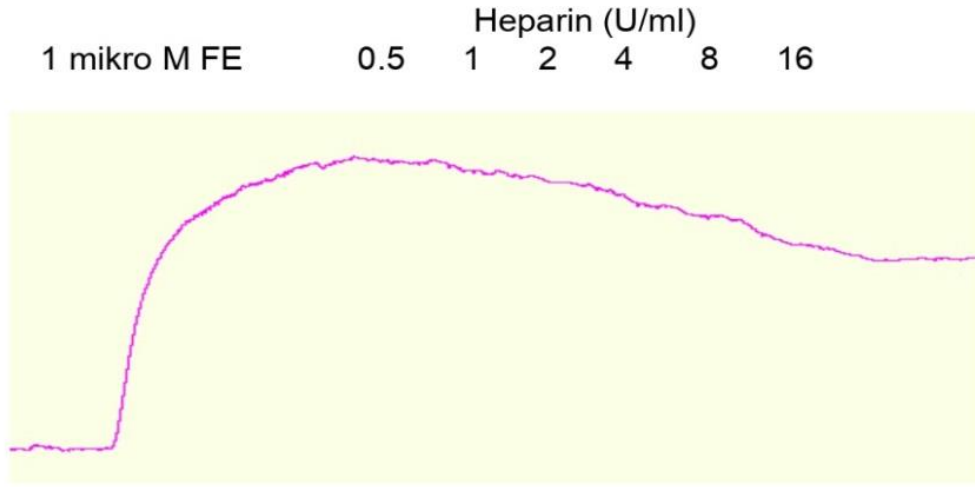
Şekil 3b. Heparinin endoteli hasarlı damar preparatındaki gevşetici etkisi



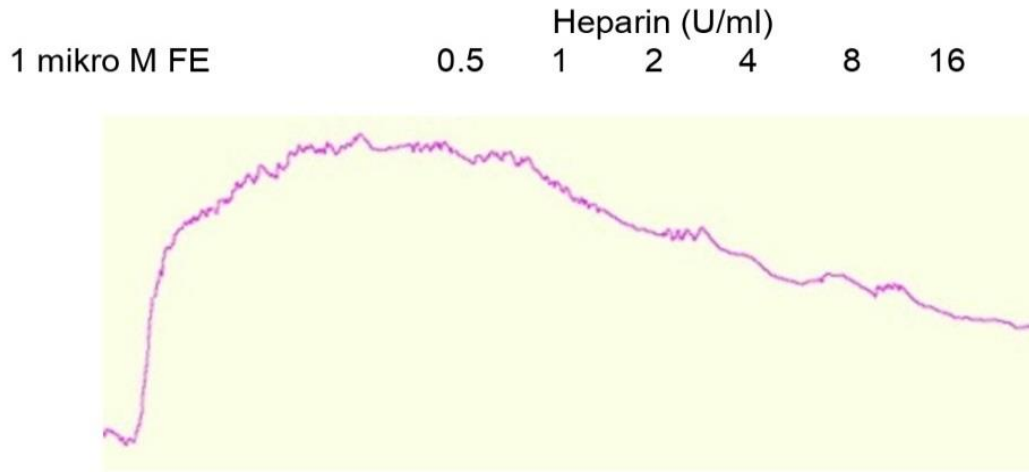
Şekil 3c. Endoteli sağlam ve hasarlı damarlarda heparinin gevşetici etkisi

Heparinin, endoteli sağlam (3a), endoteli hasarlı (3b) damarlarda damar gevşemesi üzerine yanıtlarına bakılmıştır. 10^{-6} M Fenilefrin (FE) ile kasılan preparat, plato fazına ulaştıktan sonra kümülatif olarak 0,5, 1, 2, 4, 8 ve 16 U/ml olacak şekilde organ banyosuna fraksiyonel olmayan heparin eklenmiştir. Her iki sonuç şekil 1c içinde birlikte sunulmuştur. Sonuçlar ortalama \pm SH olarak verilmiştir. Endoteli sağlam (n=12) ve endoteli hasarlı (n=7) arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur ($p < 0,05$).

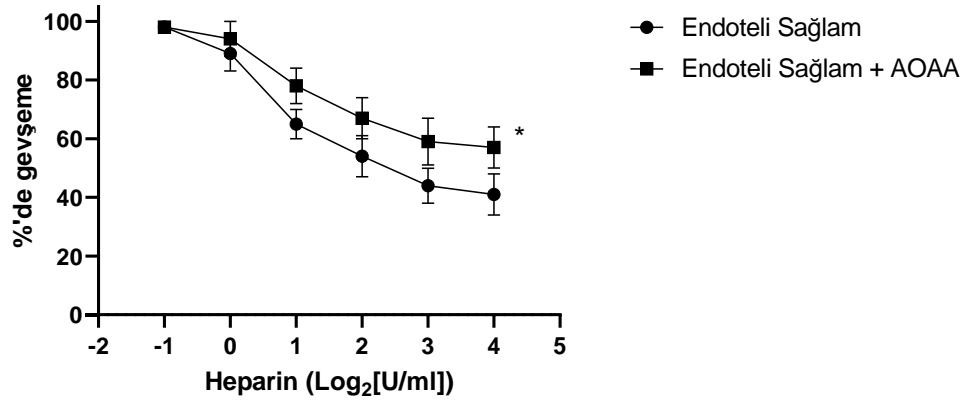
4.2. H₂S İnhibitörü Varlığında ve Yokluğunda Heparinle Oluşan Gevşeme Yanıtları



Şekil 4a. H₂S inhibitörü varlığında heparinle oluşan gevşeme yanıtlar



Şekil 4b. H₂S inhibitörü yokluğunda heparinle oluşan gevşeme yanıtları



Şekil 4c. H₂S inhibitörü varlığında ve yokluğunda heparinle oluşan gevşeme yanıtları

Endoteli sağlam damarlarda H₂S sentez inhibitörü aminooksiasetat'ın (AOAA) 1 milimolar konsantrasyonda 20 dakika inkübasyon uygulanmış/uygulanmamış damarlar 10⁻⁶ M Fenilefrin (FE) ile kasılıp, plato fazına ulaştıktan sonra fraksiyone olmayan heparin kümülatif olarak 0.5, 1, 2, 4, 8 ve 16 U/ml olacak şekilde organ banyosuna eklenmiştir. pD₂ değerleri sırasıyla 1,04±0,14 ve 0,82±0,13'dir. Sonuçlar ortalama ± SH olarak verilmiştir. Endoteli sağlam (n=12) ve endoteli sağlam + AOAA inkübe edilmiş grup (n=7) arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (p<0,05).

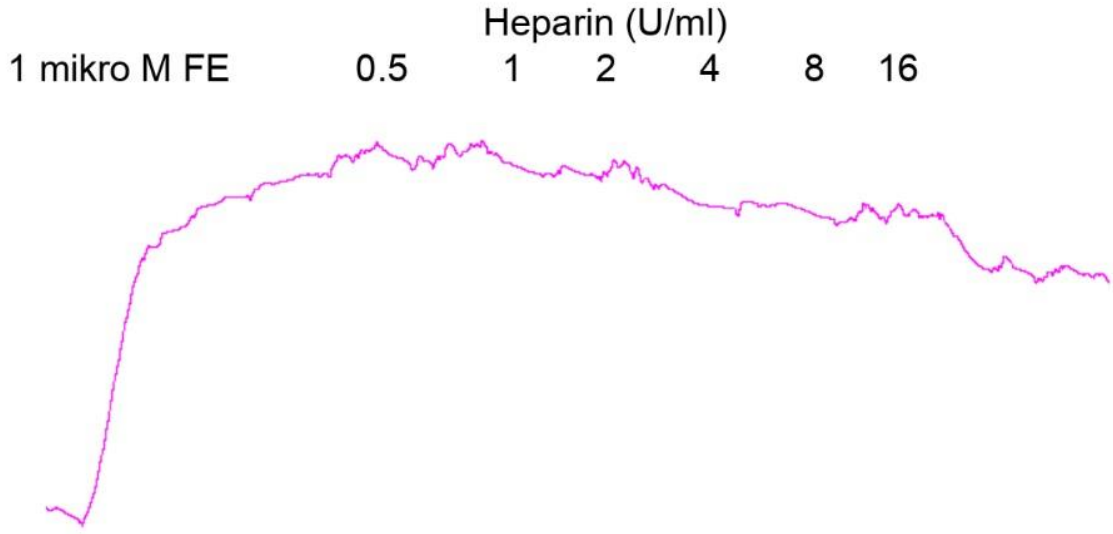
4.3. H₂S İnhibitörü ve L-NAME Varlığında Heparinle Oluşan Gevşeme Yanıtları



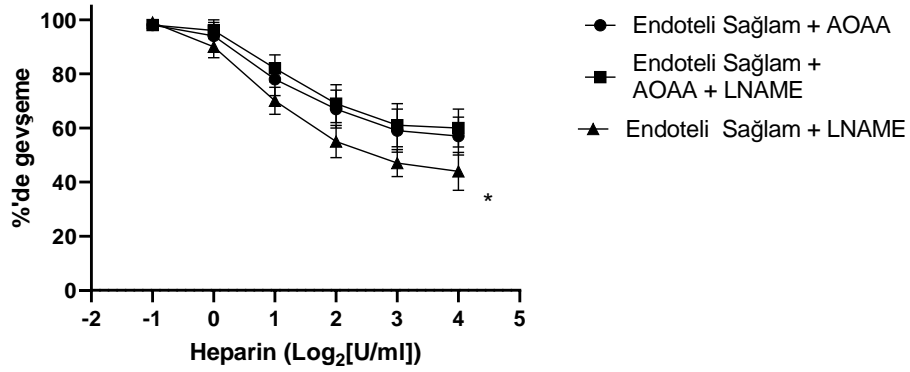
Şekil 5a. L-NAME varlığında ve heparinle oluşan gevşeme yanıtları



Şekil 5b. H₂S inhibitörü varlığında heparinle oluşan gevşeme yanıtları



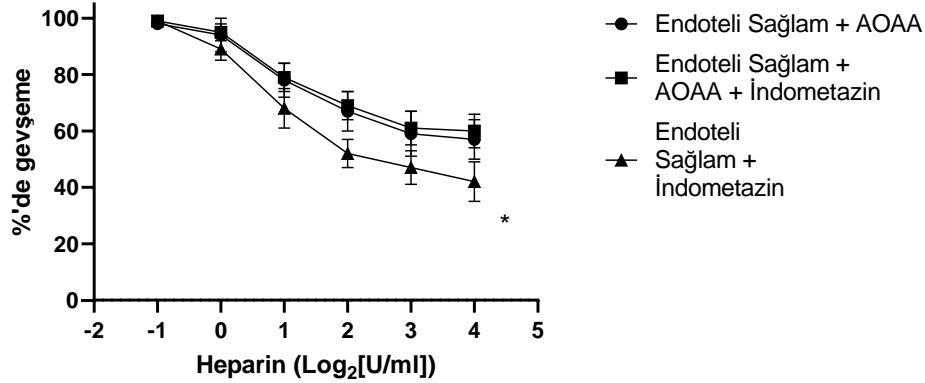
Şekil 5c. H₂S inhibitörü ve L-NAME varlığında heparinle oluşan gevşeme yanıtları



Şekil 5d. H₂S inhibitörü ve L-NAME varlığında ve yokluğunda heparinle oluşan gevşeme yanıtları

Endoteli sağlam damarlardan bir gruba bir NOS inhibitörü olan L-NAME 100 mikromolar konsantrasyonda, (5b) diğer gruba H₂S sentez inhibitörü aminooksiasetat'ın (AOAA) 1 milimolar konsantrasyonda ve son gruba da (5c) hem L-NAME, hem de AOAA'nın birlikte 20 dakika inkübasyonu sonrasında 10⁻⁶ M Fenilefrin (FE) ile kasılan preparat, plato fazına ulaştıktan sonra fraksiyone olmayan heparin kümülatif olarak 0.5, 1, 2, 4, 8 ve 16 U/ml olacak şekilde organ banyosuna eklenmiştir. Sonuçlar ortalama ± SH olarak verilmiştir. L-NAME inkübe edilmiş grup (n=7) ile tek başına AOAA inkübe edilmiş (n=7) ve hem AOAA hem de L-NAME inkübe edilmiş gruplar (n=7) arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (p<0,05).

4.4. H₂S İnhibitörü ve İndometazin Varlığında ve Yokluğunda Heparinle Oluşan Gevşeme Yanıtları

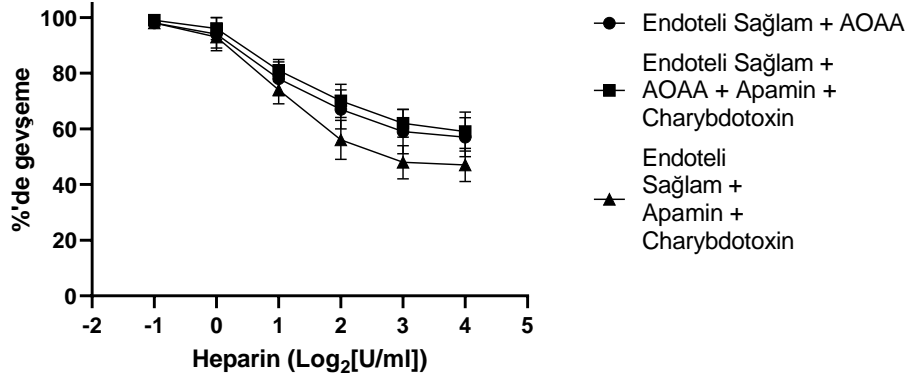


Şekil 6. H₂S İnhibitörü ve İndometazin Varlığında ve Yokluğunda Heparinle Oluşan Gevşeme Yanıtları

Endoteli sağlam damarlardan bir gruba H₂S sentez inhibitörü aminooksiasetat'ın (AOAA) 1 milimolar konsantrasyonda ve diğer gruba bir prostaglandin sentez inhibitörü olan indometazin 1 milimolar konsantrasyonda, son gruba da hem AOAA'nın hem de indometazinin 20 dakika inkübasyonu sonrasında 10⁻⁶ M Fenilefrin (FE) ile kasılan preparat, plato fazına ulaştıktan sonra fraksiyonel olmayan heparin kümülatif olarak 0.5, 1, 2, 4, 8 ve 16 U/ml olacak şekilde organ banyosuna eklenmiştir. Sonuçlar ortalama ±

SH olarak verilmiştir. İndometazin inkübe edilmiş grup (n=7) ile AOAA inkübe edilmiş (n=7) ve AOAA ve indometazin birlikte inkübe edildiği gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (p<0,05).

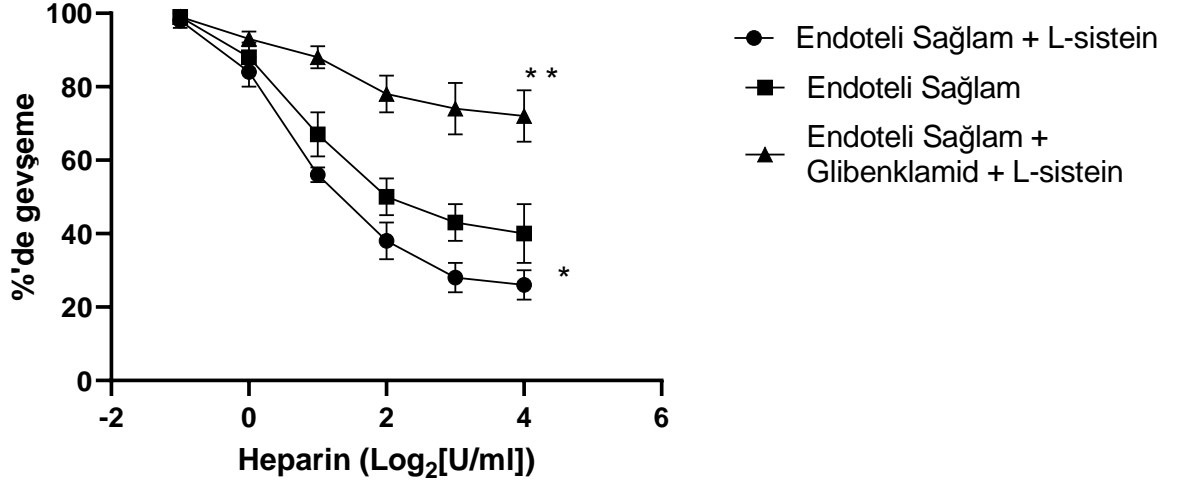
4.5. H₂S İnhibitörü ve Apamin ve Charybdotoxin Varlığında ve Yokluğunda Heparinle Oluşan Gevşeme Yanıtları



Şekil 7. H₂S İnhibitörü ve Apamin ve Charybdotoxin varlığında ve yokluğunda heparinle oluşan gevşeme yanıtları

Endoteli sağlam damarlardan bir gruba H₂S sentez inhibitörü aminooksiasetat'ın (AOAA) 1 milimolar konsantrasyonda (n=7) veya bir KCa₂ blokleri olan Apamin(5 mikromolar) + büyük kondüktanslı KCa blokleri olan Charybdotoxin (100 nanoMolar) (n=7) veya AOAA + Apamin + Charybdotoxin (n=7) birlikte 20 dakika inkübasyonu sonrasında 10⁻⁶ M Fenilefrin (FE) ile kasılan preparat, plato fazına ulaştıktan sonra fraksiyone olmayan heparin kümülatif olarak 0.5, 1, 2, 4, 8 ve 16 U/ml olacak şekilde organ banyosuna eklenmiştir. Sonuçlar ortalama ± SH olarak verilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır.

4.6. Heparinle Oluşturulan Gevşeme Yanıtında Bir H₂S Prekürsörü olan L-sistein ve K_{ATP} İnhibitörü olan Glibenklamidin Etkileri



Şekil 8. Heparinle Oluşturulan Gevşeme Yanıtında Bir H₂S Prekürsörü olan L-sistein ve K_{ATP} İnhibitörü olan Glibenklamidin Etkileri

H₂S prekürsörü olan L-sistein ve K_{ATP} kanal blokeri olan glibenklamidin heparinle oluşturulan gevşeme yanıtı üzerine etkisine bakılmıştır. Bir gruba L-sistein (100 mikromolar), diğer gruba L-sistein (100 mikromolar) + Glibenklamid (100 mikromolar) 20 dakika inkübe edildikten sonra 10⁻⁶ M Fenilefrin (FE) ile kasılan preparat, plato fazına ulaştıktan sonra fraksiyonel olmayan heparin kümülatif olarak 0.5, 1, 2, 4, 8 ve 16 U/ml olacak şekilde organ banyosuna eklenmiştir. Sonuçlar herhangi bir şey inkübe edilmemiş üçüncü grubun sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Sonuçlar ortalama ± SH olarak verilmiştir. L-sistein inkübe edilmiş grup (n=7) ve glibenklamid inkübe edilmiş (n=7) gruplar ile herhangi bir şey inkübe edilmeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (p<0,05).

5. TARTIŞMA

Fraksiyonel olmayan heparinin kullanımı sırasında kan basıncında düşüşlerin gözlenmesi, heparin molekülünün vazodilatör bir etki mekanizmasına sahip olabileceğini düşündürmüştür. Sonraki zamanlarda insan damarları üzerinde yapılan çalışmalar heparinin vazodilatör etkisini doğrulamıştır (Yuan ve ark., 2019). Daha sonra damarlar üzerinde yapılan in vitro çalışmalarla da damarlar üzerindeki gevşetici etki pekiştirilmiştir.

Günümüzde gazotransmitterlerin pek çok fonksiyonu tanımlanmıştır. Bunlardan hidrojen sülfür (H_2S), tıpkı diğer gazotransmitter olan nitrik oksit gibi dokularda gevşeme fonksiyonlarında görev aldığı bilinmektedir. Heparinin gevşeme fonksiyonunda hidrojen sülfürün yerini araştırdığımız bu çalışmamızda endoteli sağlam ve endoteli hasarlı iki dokuda heparin özellikle endoteli sağlam damar preparatlarında gevşetici etki oluşturmuştur. 20 dakika hidrojen sülfür üretiminde yer alan cystathionine beta-synthase (CBS) enzyme inhibitör olanaminoxyacetic asid (AOAA) ile inkübe edildikten sonra gevşeme yanıtının azalması, heparinin oluşturduğu gevşeme yanıtında hidrojen sülfürün yerinin olduğunu düşündürmektedir. NOS inhibitörü L-NAME ile 20 inkübasyon sonrasında fenilefrinle kasılan dokuda heparinin gevşetici etkisinin tamamen ortadan kalkmaması en azından NO-sGMP yolağının tamamen bu gevşemeden sorumlu olmayabileceğini düşündürmektedir. CBS inhibitörü ve L-NAME'nin birlikte inkübasyonu sadece L-NAME inkübasyonu ile görülen azalmaya göre daha fazla azaltmıştır. Sadece hidrojen sülfürü, CBS inhibitörü, AOAA ile görülen gevşemede azalmayla, AOAA ve L-NAME'in gevşemedeki inhibe edici etkinin miktarını karşılaştırınca, ikili inkübasyonun daha etkili olduğu görülmektedir; bu NO üretiminin de gevşeme mekanizmalarında faktör olabileceğini düşündürmektedir.

Damar gevşeme mekanizmalarında yer alan diğer bir mekanizma prostaglandinlerdir. İndometazin bir prostaglandin sentez inhibitörü olarak, bu tür çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. H_2S sentez inhibitörü, AOAA, inkübasyonu ile görülen gevşeme yanıtındaki azalmayla, indometazin varlığında görülen azalma karşılaştırılınca H_2S 'in prostaglandinlere göre daha fazla heparinin gevşetici mekanizmasında yer aldığı görülmektedir. İndometazin ve AOAA'nın birlikte inkübasyonu ile elde edilen

gevşemede azalmanın; AOAA inkübasyonu ile elde edilenden daha fazla olması ise H₂S'ün heparinin gevşetici etkisinde tek faktör olmadığı düşündürmektedir. Gevşetici mekanizmalarda diğer bir faktör de endotel kökenli hiperpolarize edici faktör (EDHF)'dür. Bu faktörün kesin olarak ne olduğu bilinmese de, iki ayrı potasyum kanal blokerinin birlikte kullanımının, NO ve prostaglandinin gevşetici etkilerinin dışında kalan gevşeme yanıtını tamamen ortadan kaldırdığının gösterilmesiyle, bu faktörün potasyum kanal aktivitesiyle ilişkili olabileceği kabul edilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda EDHF inhibitörü olarak iki potasyum kanal blokeri Apamin ve Charybdotoxin kullanılmıştır. Bu iki blokerin inhibisyonuyla, diğerlerinden farklı olarak, heparinin oluşturduğu gevşetici etki önemli miktarda azalmıştır. H₂S sentez inhibitörüyle de gevşemede benzer miktarda azalma olması yanı sıra H₂S sentez inhibitörü ve EDHF inhibitörleri birlikte inkübe edildiğinde gevşeme yanıtındaki inhibisyon anlamlı şekilde artmamıştır. Bu durum, H₂S'in gevşetici mekanizmasında potasyum kanallarının var olduğu düşüncesiyle uyumaktadır (Materazzi ve ark. 2017).

Çalışmamızda son olarak H₂S üretimindeki artışın, heparinin oluşturduğu gevşetici mekanizmayı artırıp/artırmadığını araştırmak için bir H₂S sentez prekürsörü olan L-sistein varlığında yanıtlar çalışılmıştır. L-sisteinle inkübasyon sonrası heparinin gevşetici etkisinin artışı, gevşetici mekanizmada H₂S'in yerini daha da pekiştirmiştir. Hidrojen sülfürün gevşetici mekanizmalarında özellikle K_{ATP} kanallarının yer aldığı düşünülmektedir (4). Bir K_{ATP} kanal blokeri olan glibenklamid inkübasyonu sonrasında, L-sistein ile heparinin gevşeme yanıtındaki artış büyük oranda ortadan kalkmıştır. Bu da heparinin H₂S aracılı gevşetici mekanizmalarının arasında en fazla ağırlığın K_{ATP} kanallarının olduğunu düşündürmektedir. Bu da Materazzi ve ark'nın çalışmalarındaki bulguları desteklemektedir (Materazzi ve ark. 2017).

Sonuç olarak, heparin konsantrasyona bağlı olarak rat aortunda gevşeme yanıtı oluşturmaktadır. Bu gevşeme mekanizmasında H₂S'de yer alıyor gibi görünmektedir. H₂S bu gevşemeyi, ağırlıklı olarak K_{ATP} potasyum kanalları aracılığıyla olmak üzere, olasılıkla diğer potasyum kanalları aracılığıyla yapmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Fraksiyonel heparinin damarlar üzerinde gevşetici yanıt oluşturduğu görülmüştür ve bu gevşetici yanıtta hidrojen sülfürün bir faktör olduğu gösterilmiştir. Günümüzde hidrojen sülfür ile ilgili çeşitli ilaçlar geliştirilmiştir. Bu ilaçların çoğu kardiyovasküler hastalıklara yöneliktir. Yeni geliştirilen bu ilaçlar birlikte kullanılmak zorunda kalacaktır. Böyle bir durumda ilaçların etkileri nedeniyle damar gevşeme yanıtlarında değişiklik olacaktır ve bunun ilaç etkilerini değiştirme olasılığı vardır. Bu nedenle heparin ile hidrojen sülfürle ilişkili ilaçların kullanılması sırasında dikkatli olunması gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

Abe, K., & Kimura, H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci.* 1996; 16 (3): 1066-1071.

Adams, R. H., & Alitalo, K. Molecular regulation of angiogenesis and *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8 (6): 464-478

Al-Magableh, M. R., Kemp-Harper, B. K., & Hart, J. L. Hydrogen sulfide treatment reduces blood pressure and oxidative stress in angiotensin ii-induced hypertensive mice. *Hypertens Res.* 2015; 38 (1): 13-20.

Alikhan, R., Bedenis, R., & Cohen, A. T. Heparin for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients (excluding stroke and myocardial infarction). *Cochrane Database Syst Rev.* 2014; (5): CD003747.

Altaany, Z., Yang, G., & Wang, R. Crosstalk between hydrogen sulfide and nitric oxide in endothelial cells. *J Cell Mol Med.* 2013; 17 (7): 879-888.

Amado-Azevedo, J., Valent, E. T., & Van Nieuw Amerongen, G. P. Regulation of the endothelial barrier function: A film granum of cellular forces, rho-gtpase signaling and microenvironment. *Cell Tissue Res.* 2014; 355 (3): 557-576.

Anand, P., & Stamler, J. S. Enzymatic mechanisms regulating protein s-nitrosylation: Implications in health and disease. *J Mol Med (Berl).* 2012; 90 (3): 233-244.

Arjomand, H., Surabhi, S. K., & Cohen, M. Unfractionated versus fractionated heparin for percutaneous coronary intervention. *Curr Cardiol Rep.* 2002; 4 (4): 327-333.

Arnal, J. F., el Amrani, A. I., Chatellier, G., Menard, J., & Michel, J. B. Cardiac weight in hypertension induced by nitric oxide synthase blockade. *Hypertension.* 1993; 22 (3): 380-387.

Atiq, F., van den Bemt, P. M., Leebeek, F. W., van Gelder, T., & Versmissen, J. A systematic review on the accumulation of prophylactic dosages of low-molecular-weight

heparins (lmwhs) in patients with renal insufficiency. *Eur J Clin Pharmacol.* 2015; 71 (8): 921-929.

Avogaro, A., Albiero, M., Menegazzo, L., de Kreutzenberg, S., & Fadini, G. P. Endothelial dysfunction in diabetes: The role of reparatory mechanisms. *Diabetes Care.* 2011; 34 Suppl 2: S285-290.

Barrera, L. M., Perel, P., Ker, K., Cirocchi, R., Farinella, E., & Morales Uribe, C. H. Thromboprophylaxis for trauma patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013; (3):CD008303.

Bazzoni, G., & Dejana, E. Endothelial cell-to-cell junctions: Molecular organization and role in vascular homeostasis. *Physiol Rev.* 2004; 84 (3): 869-901.

Beckman, J. S., & Crow, J. P. Pathological implications of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite formation. *Biochem Soc Trans.* 1993; 21 (2): 330-334.

Beckman, J. S., & Koppenol, W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: The good, the bad, and ugly. *Am J Physiol.* 1996; 271 (5 Pt 1): C1424-1437.

Beltowski, J. Hydrogen sulfide in pharmacology and medicine--an update. *Pharmacol Rep.* 2015; 67 (3): 647-658.

Benhar, M., Forrester, M. T., & Stamler, J. S. Protein denitrosylation: Enzymatic mechanisms and cellular functions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009; 10 (10): 721-732.

Bibli, S. I., Andreadou, I., Chatzianastasiou, A., Tzimas, C., Sanoudou, D., Kranias, E., Papapetropoulos, A. Cardioprotection by h₂s engages a cGMP-dependent protein kinase g/phospholamban pathway. *Cardiovasc Res.* 2015; 106 (3): 432-442.

Bir, S. C., Kolluru, G. K., McCarthy, P., Shen, X., Pardue, S., Pattillo, C. B., & Kevil, C. G. Hydrogen sulfide stimulates ischemic vascular remodeling through nitric oxide synthase and nitrite reduction activity regulating hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis. *J Am Heart Assoc.* 2012; 1 (5): e004093.

- Blatter, L. A., & Wier, W. G. Nitric oxide decreases $[Ca^{2+}]_i$ in vascular smooth muscle by inhibition of the calcium current. *Cell Calcium*. 1994; 15 (2): 122-131.
- Bolotina, V. M., Najibi, S., Palacino, J. J., Pagano, P. J., & Cohen, R. A. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature*. 1994; 368 (6474): 850-853.
- Borsani, E., Giovannozzi, S., Cocchi, M. A., Boninsegna, R., Rezzani, R., & Rodella, L. F. Endothelial nitric oxide synthase in dorsal root ganglia during chronic inflammatory nociception. *Cells Tissues Organs*. 2013; 197 (2): 159-168.
- Bowen, R., & Haslam, R. J. Effects of nitrovasodilators on platelet cyclic nucleotide levels in rabbit blood; role for cyclic amp in synergistic inhibition of platelet function by sin-1 and prostaglandin e1. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1991; 17 (3): 424-433.
- Bredt, D. S., Hwang, P. M., Glatt, C. E., Lowenstein, C., Reed, R. R., & Snyder, S. H. Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome p-450 reductase. *Nature*. 1991; 351 (6329): 714-718.
- Bredt, D. S., & Snyder, S. H. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990; 87 (2): 682-685.
- Brownlee, M. The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. *Diabetes*. 2005; 54 (6): 1615-1625.
- Bruhwyler, J., Chleide, E., Liegeois, J. F., & Carreer, F. Nitric oxide: A new messenger in the brain. *Neurosci Biobehav Rev*. 1993; 17 (4): 373-384.
- Bryan, N. S., Calvert, J. W., Gundewar, S., & Lefler, D. J. Dietary nitrite restores no homeostasis and is cardioprotective in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Free Radic Biol Med*. 2008; 45 (4): 468-474.

Bucci, M., Papapetropoulos, A., Vellecco, V., Zhou, Z., Zaid, A., Giannogonas, P., Cirino, G. Cgmp-dependent protein kinase contributes to hydrogen sulfide-stimulated vasorelaxation. *PLoS One*. 2012; 7 (12): e53319.

Bucci, M., Vellecco, V., Cantalupo, A., Brancalone, V., Zhou, Z., Evangelista, S., Cirino, G. Hydrogen sulfide accounts for the peripheral vascular effects of zofenopril independently of ace inhibition. *Cardiovasc Res*. 2014; 102 (1): 138-147.

Burnett, A. L. Nitric oxide control of lower genitourinary tract functions: A review. *Urology*. 1995; 45 (6): 1071-1083.

Cannon, J. G. Cytokines in aging and muscle homeostasis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1995; 50 Spec No: 120-123.

Carmeliet, P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med*. 2003; 9 (6): 653-660. Carmeliet, P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature*. 2005; 438 (7070): 932-936.

Casthely, P. A., Yoganathan, D., Karyanis, B., Salem, M., Yoganathan, T., Komer, C., Hudak, A. Histamine blockade and cardiovascular changes following heparin administration during cardiac surgery. *J Cardiothorac Anesth*. 1990; 4 (6): 711-714.

Chan, M. V., & Wallace, J. L. Hydrogen sulfide-based therapeutics and gastrointestinal diseases: Translating physiology to treatments. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013; 305 (7): G467-473.

Cheng, Z., Shen, X., Jiang, X., Shan, H., Cimini, M., Fang, P., Wang, H. Hyperhomocysteinemia potentiates diabetes-impaired edhf-induced vascular relaxation: Role of insufficient hydrogen sulfide. *Redox Biol*. 2018; 16: 215-225.

Chiou, G. C. Review: Effects of nitric oxide on eye diseases and their treatment. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2001; 17 (2): 189-198.

Cirino, G., Vellecco, V., & Bucci, M. Nitric oxide and hydrogen sulfide: The gasotransmitter paradigm of the vascular system. *Br J Pharmacol.* 2017; 174 (22): 4021-4031.

Cohen, R. A., Weisbrod, R. M., Gericke, M., Yaghoubi, M., Bierl, C., & Bolotina, V. M. Mechanism of nitric oxide-induced vasodilatation: Refilling of intracellular stores by sarcoplasmic reticulum ca^{2+} atpase and inhibition of store-operated ca^{2+} influx. *Circ Res.* 1999; 84 (2): 210-219.

Coletta, C., Modis, K., Szczesny, B., Brunyanszki, A., Olah, G., Rios, E. C., Szabo, C. Regulation of vascular tone, angiogenesis and cellular bioenergetics by the 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase/h2s pathway: Functional impairment by hyperglycemia and restoration by dl-alpha-lipoic acid. *Mol Med.* 2015; 21: 1-14.

Coletta, C., Papapetropoulos, A., Erdelyi, K., Olah, G., Modis, K., Panopoulos, P., Szabo, C. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109 (23): 9161-9166.

Conti, M., & Beavo, J. Biochemistry and physiology of cyclic nucleotide phosphodiesterases: Essential components in cyclic nucleotide signaling. *Annu Rev Biochem.* 2007; 76: 481-511.

Cornwell, T. L., Pryzwansky, K. B., Wyatt, T. A., & Lincoln, T. M. Regulation of sarcoplasmic reticulum protein phosphorylation by localized cyclic gmp-dependent protein kinase in vascular smooth muscle cells. *Mol Pharmacol.* 1991; 40 (6): 923-931.

Crabtree, M. J., Hale, A. B., & Channon, K. M. Dihydrofolate reductase protects endothelial nitric oxide synthase from uncoupling in tetrahydrobiopterin deficiency. *Free Radic Biol Med.* 2011; 50 (11): 1639-1646.

d'Emmanuele di Villa Bianca, R., Sorrentino, R., Coletta, C., Mitidieri, E., Rossi, A., Vellecco, V., Sorrentino, R. Hydrogen sulfide-induced dual vascular effect involves

arachidonic acid cascade in rat mesenteric arterial bed. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011; 337 (1): 59-64.

Drummond, G. R., Cai, H., Davis, M. E., Ramasamy, S., & Harrison, D. G. Transcriptional and posttranscriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase expression by hydrogen peroxide. *Circ Res.* 2000; 86 (3): 347-354.

Elrod, J. W., Calvert, J. W., Morrison, J., Doeller, J. E., Kraus, D. W., Tao, L., Lefer, D. J. Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by preservation of mitochondrial function. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104 (39): 15560-15565.

Esplugues, J. V. NO as a signalling molecule in the nervous system. *Br J Pharmacol.* 2002; 135 (5): 1079-1095.

Eto, K., & Kimura, H. A novel enhancing mechanism for hydrogen sulfide-producing activity of cystathionine beta-synthase. *J Biol Chem.* 2002; 277 (45): 42680-42685. Faria, A., & Persaud, S. J. Cardiac oxidative stress in diabetes: Mechanisms and therapeutic potential. *Pharmacol Ther.* 2017; 172: 50-62.

Fernandes, V. S., Ribeiro, A. S., Barahona, M. V., Orensanz, L. M., Martinez-Saenz, A., Recio, P., . . . Hernandez, M. Hydrogen sulfide mediated inhibitory neurotransmission to the pig bladder neck: Role of katp channels, sensory nerves and calcium signaling. *J Urol.* 2013; 190 (2): 746-756.

Ferrara, N., & Kerbel, R. S. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature.* 2005; 438 (7070): 967-974.

Fiorucci, S., Antonelli, E., Distrutti, E., Rizzo, G., Mencarelli, A., Orlandi, S., Wallace, J. L. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. *Gastroenterology.* 2005; 129 (4): 1210-1224.

Fiorucci, S., Distrutti, E., Cirino, G., & Wallace, J. L. The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. *Gastroenterology.* 2006; 131 (1): 259-271.

Folkman, J. Angiogenesis: An organizing principle for drug discovery? *Nat Rev Drug Discov.* 2007; 6 (4): 273-286.

Forrester, M. T., Seth, D., Hausladen, A., Eyler, C. E., Foster, M. W., Matsumoto, A., Stamler, J. S. Thioredoxin-interacting protein (txnip) is a feedback regulator of s-nitrosylation. *J Biol Chem.* 2009; 284 (52): 36160-36166.

Forstermann, U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers Arch.* 2010; 459 (6): 923-939.

Forstermann, U., & Sessa, W. C. Nitric oxide synthases: Regulation and function. *Eur Heart J.* 2012; 33 (7): 829-837, 837a-837d.

Foster, M. W., Hess, D. T., & Stamler, J. S. Protein s-nitrosylation in health and disease: A current perspective. *Trends Mol Med.* 2009; 15 (9): 391-404.

Foster, M. W., McMahon, T. J., & Stamler, J. S. S-nitrosylation in health and disease. *Trends Mol Med.* 2003; 9 (4): 160-168.

Fukai, T., Siegfried, M. R., Ushio-Fukai, M., Cheng, Y., Kojda, G., & Harrison, D. G. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. *J Clin Invest.* 2000; 105 (11): 1631-1639.

Furchgott, R. F., & Zawadzki, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980; 288 (5789): 373-376.

Gai, J. W., Wahafu, W., Guo, H., Liu, M., Wang, X. C., Xiao, Y. X., . . . Jin, J. Further evidence of endogenous hydrogen sulphide as a mediator of relaxation in human and rat bladder. *Asian J Androl.* 2013; 15 (5): 692-696.

Gang Li, Tao Xia, Xin Liu, Xiang-Qian Kong, Yang Liu: Hydrogen sulfide exerts antithrombotic effects and inhibits deep vein thrombosis through NOS-PECAM-1 signaling pathway. *Int J Clin Exp Med* 2016;9(8):15607-15620. (Abstract IJCEM0026092, Full text PDF).

Garthwaite, J. Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. *Eur J Neurosci*. 2008; 27 (11): 2783-2802.

Gero, D., Torregrossa, R., Perry, A., Waters, A., Le-Trionnaire, S., Whatmore, J. L., Whiteman, M. The novel mitochondria-targeted hydrogen sulfide (h₂s) donors ap123 and ap39 protect against hyperglycemic injury in microvascular endothelial cells in vitro. *Pharmacol Res*. 2016; 113 (Pt A): 186-198.

Gonzalez, D. R., Treuer, A., Sun, Q. A., Stamler, J. S., & Hare, J. M. S-nitrosylation of cardiac ion channels. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009; 54 (3): 188-195.

Guan, Q., Zhang, Y., Yu, C., Liu, Y., Gao, L., & Zhao, J. Hydrogen sulfide protects against high-glucose-induced apoptosis in endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2012; 59 (2): 188-193.

Guo, H., Gai, J. W., Wang, Y., Jin, H. F., Du, J. B., & Jin, J. Characterization of hydrogen sulfide and its synthases, cystathionine beta-synthase and cystathionine gamma-lyase, in human prostatic tissue and cells. *Urology*. 2012; 79 (2): 483 e481-485.

Haynes, W. G., Noon, J. P., Walker, B. R., & Webb, D. J. Inhibition of nitric oxide synthesis increases blood pressure in healthy humans. *J Hypertens*. 1993; 11 (12): 1375-1380.

Hirsh, J., Anand, S. S., Halperin, J. L., & Fuster, V. Mechanism of action and pharmacology of unfractionated heparin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21 (7): 1094-1096.

Hirsh, J., & Buchanan, M. R. Comparative effects of heparin and lmw heparin on hemostasis. *Thromb Res Suppl*. 1991; 14: 11-17.

Hirsh, J., & Raschke, R. Heparin and low-molecular-weight heparin: The seventh accp conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. *Chest*. 2004; 126 (3 Suppl): 188S-203S.

Horowitz, A., Menice, C. B., Laporte, R., & Morgan, K. G. Mechanisms of smooth muscle contraction. *Physiol Rev.* 1996; 76 (4): 967-1003.

Hosoki, R., Matsuki, N., & Kimura, H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 237 (3): 527-531.

Huang, P. L. Disruption of the endothelial nitric oxide synthase gene: Effect on vascular response to injury. *Am J Cardiol.* 1998; 82 (10A): 57S-59S.

Huang, P. L., Huang, Z., Mashimo, H., Bloch, K. D., Moskowitz, M. A., Bevan, J. A., & Fishman, M. C. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature.* 1995; 377 (6546): 239-242.

Ignarro, L. J., Byrns, R. E., Buga, G. M., Wood, K. S., & Chaudhuri, G. Pharmacological evidence that endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide: Use of pyrogallol and superoxide dismutase to study endothelium-dependent and nitric oxide-elicited vascular smooth muscle relaxation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1988; 244 (1): 181-189.

Ignarro, L. J., Harbison, R. G., Wood, K. S., & Kadowitz, P. J. Activation of purified soluble guanylate cyclase by endothelium-derived relaxing factor from intrapulmonary artery and vein: Stimulation by acetylcholine, bradykinin and arachidonic acid. *J Pharmacol Exp Ther.* 1986; 237 (3): 893-900.

Khan, B. V., Harrison, D. G., Olbrych, M. T., Alexander, R. W., & Medford, R. M. Nitric oxide regulates vascular cell adhesion molecule 1 gene expression and redox-sensitive transcriptional events in human vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996; 93 (17): 9114-9119.

Kim, J. B., Joung, H. J., Lee, J. M., Woo, J. S., Kim, W. S., Kim, K. S., Kim, W. Evaluation of the vascular protective effects of new oral anticoagulants in high-risk patients with atrial fibrillation (prefer-af): Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2016; 17 (1): 422.

Kimura, H. The physiological role of hydrogen sulfide and beyond. *Nitric Oxide*. 2014; 41: 4-10.

Kondo, K., Bhushan, S., King, A. L., Prabhu, S. D., Hamid, T., Koenig, S., Lefler, D. J. H₂S protects against pressure overload-induced heart failure via upregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2013; 127 (10): 1116-1127.

Dandan- Randa Hilal, Brunton Laurance L., Goodman ve Gilman'ın Farmakoloji ve Tedavi El Kitabı Çeviren: Erdem Ş. Remzi. 2. basım, Güneş Tıp Evleri, Ankara; 2017, s:44-332.

Kubes, P., Suzuki, M., & Granger, D. N. Nitric oxide: An endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991; 88 (11): 4651-4655.

Kubo, S., Kajiwara, M., & Kawabata, A. Dual modulation of the tension of isolated gastric artery and gastric mucosal circulation by hydrogen sulfide in rats. *Inflammopharmacology*. 2007; 15 (6): 288-292.

Kunieda, T., Minamino, T., Miura, K., Katsuno, T., Tateno, K., Miyauchi, H., Komuro, I. Reduced nitric oxide causes age-associated impairment of circadian rhythmicity. *Circ Res*. 2008; 102 (5): 607-614.

Kutz, J. L., Greaney, J. L., Santhanam, L., & Alexander, L. M. Evidence for a functional vasodilatory role for hydrogen sulphide in the human cutaneous microvasculature. *J Physiol*. 2015; 593 (9): 2121-2129.

Lefler, D. J., Jones, S. P., Girod, W. G., Baines, A., Grisham, M. B., Cockrell, A. S., Scalia, R. Leukocyte-endothelial cell interactions in nitric oxide synthase-deficient mice. *Am J Physiol*. 1999; 276 (6): H1943-1950.

Li, L., Rose, P., & Moore, P. K. Hydrogen sulfide and cell signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2011; 51: 169-187.

Linden, D. R., Sha, L., Mazzone, A., Stoltz, G. J., Bernard, C. E., Furne, J. K., Szurszewski, J. H. Production of the gaseous signal molecule hydrogen sulfide in mouse tissues. *J Neurochem.* 2008; 106 (4): 1577-1585.

Lipton, S. A., Choi, Y. B., Pan, Z. H., Lei, S. Z., Chen, H. S., Sucher, N. J., Stamler, J. S. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature.* 1993; 364 (6438): 626-632.

Lohmann, S. M., Vaandrager, A. B., Smolenski, A., Walter, U., & De Jonge, H. R. Distinct and specific functions of cgmp-dependent protein kinases. *Trends Biochem Sci.* 1997; 22 (8): 307-312.

Lowenstein, C. J., Glatt, C. S., Bredt, D. S., & Snyder, S. H. Cloned and expressed macrophage nitric oxide synthase contrasts with the brain enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89 (15): 6711-6715.

Mandal, A. K., Lyden, T. W., & Saklayen, M. G. Heparin lowers blood pressure: Biological and clinical perspectives. *Kidney Int.* 1995; 47 (4): 1017-1022.

Mani, S., Untereiner, A., Wu, L., & Wang, R. Hydrogen sulfide and the pathogenesis of atherosclerosis. *Antioxid Redox Signal.* 2014; 20 (5): 805-817.

Marshall, H. E., & Stamler, J. S. Inhibition of nf-kappa b by s-nitrosylation. *Biochemistry.* 2001; 40 (6): 1688-1693.

Materazzi S, Zagli G, Nassini R, Bartolini I, Romagnoli S, Chelazzi C, Benemei S, Coratti A, De Gaudio AR, Patacchini R. Vasodilator activity of hydrogen sulfide (H₂S) in human mesenteric arteries. *Microvasc Res.* 2017 Jan;109:38-44. doi:10.1016/j.mvr.2016.11.001. Epub 2016 Nov 3.

Maurice, D. H., & Haslam, R. J. Molecular basis of the synergistic inhibition of platelet function by nitrovasodilators and activators of adenylate cyclase: Inhibition of cyclic amp breakdown by cyclic gmp. *Mol Pharmacol.* 1990; 37 (5): 671-681.

Miles, E. W., & Kraus, J. P. Cystathionine beta-synthase: Structure, function, regulation, and location of homocystinuria-causing mutations. *J Biol Chem.* 2004; 279 (29): 29871-29874.

Mizuno, Y., Isotani, E., Huang, J., Ding, H., Stull, J. T., & Kamm, K. E. Myosin light chain kinase activation and calcium sensitization in smooth muscle in vivo. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008; 295 (2): C358-364.

Modis, K., Panopoulos, P., Coletta, C., Papapetropoulos, A., & Szabo, C. Hydrogen sulfide-mediated stimulation of mitochondrial electron transport involves inhibition of the mitochondrial phosphodiesterase 2a, elevation of camp and activation of protein kinase a. *Biochem Pharmacol.* 2013; 86 (9): 1311-1319.

Montagnana, M., Favalaro, E. J., Franchini, M., Guidi, G. C., & Lippi, G. The role of ethnicity, age and gender in venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis.* 2010; 29 (4): 489-496.

Moro, M. A., Russel, R. J., Cellek, S., Lizasoain, I., Su, Y., Darley-USmar, V. M., Moncada, S. Cgmp mediates the vascular and platelet actions of nitric oxide: Confirmation using an inhibitor of the soluble guanylyl cyclase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996; 93 (4): 1480-1485.

Moya, M. P., Gow, A. J., Califf, R. M., Goldberg, R. N., & Stamler, J. S. Inhaled ethyl nitrite gas for persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet.* 2002; 360 (9327): 141-143.

Nagahara, N., Ito, T., Kitamura, H., & Nishino, T. Tissue and subcellular distribution of mercaptopyruvate sulfurtransferase in the rat: Confocal laser fluorescence and immunoelectron microscopic studies combined with biochemical analysis. *Histochem Cell Biol.* 1998; 110 (3): 243-250.

Nishida, M., Sawa, T., Kitajima, N., Ono, K., Inoue, H., Ihara, H., Akaike, T. Hydrogen sulfide anion regulates redox signaling via electrophile sulfhydration. *Nat Chem Biol.* 2012; 8 (8): 714-724.

Niu, X. F., Smith, C. W., & Kubes, P. Intracellular oxidative stress induced by nitric oxide synthesis inhibition increases endothelial cell adhesion to neutrophils. *Circ Res.* 1994; 74 (6): 1133-1140.

Ono, K., Akaike, T., Sawa, T., Kumagai, Y., Wink, D. A., Tantillo, D. J., Fukuto, J. M. Redox chemistry and chemical biology of h₂s, hydropersulfides, and derived species: Implications of their possible biological activity and utility. *Free Radic Biol Med.* 2014; 77: 82-94.

Pan, L. L., Liu, X. H., Shen, Y. Q., Wang, N. Z., Xu, J., Wu, D., Zhu, Y. Z. Inhibition of nadph oxidase 4-related signaling by sodium hydrosulfide attenuates myocardial fibrotic response. *Int J Cardiol.* 2013; 168 (4): 3770-3778.

Papapetropoulos, A., Pyriochou, A., Altaany, Z., Yang, G., Marazioti, A., Zhou, Z., Szabo, C. Hydrogen sulfide is an endogenous stimulator of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106 (51): 21972-21977.

Patacchini, R., Santicioli, P., Giuliani, S., & Maggi, C. A. Hydrogen sulfide (h₂s) stimulates capsaicin-sensitive primary afferent neurons in the rat urinary bladder. *Br J Pharmacol.* 2004; 142 (1): 31-34.

Patacchini, R., Santicioli, P., Giuliani, S., & Maggi, C. A. Pharmacological investigation of hydrogen sulfide (h₂s) contractile activity in rat detrusor muscle. *Eur J Pharmacol.* 2005; 509 (2-3): 171-177.

Pfeilschifter, J. Does nitric oxide, an inflammatory mediator of glomerular mesangial cells, have a role in diabetic nephropathy? *Kidney Int Suppl.* 1995; 51: S50-60.

Pigazzi, A., Heydrick, S., Folli, F., Benoit, S., Michelson, A., & Loscalzo, J. Nitric oxide inhibits thrombin receptor-activating peptide-induced phosphoinositide 3-kinase activity in human platelets. *J Biol Chem.* 1999; 274 (20): 14368-14375.

Pitocco, D., Zaccardi, F., Di Stasio, E., Romitelli, F., Santini, S. A., Zuppi, C., & Ghirlanda, G. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud.* 2010; 7 (1): 15-25.

Polhemus, D. J., & Lefter, D. J. Emergence of hydrogen sulfide as an endogenous gaseous signaling molecule in cardiovascular disease. *Circ Res.* 2014; 114 (4): 730-737.

Predmore, B. L., Lefter, D. J., & Gojon, G. Hydrogen sulfide in biochemistry and medicine. *Antioxid Redox Signal.* 2012; 17 (1): 119-140.

Que, L. G., Yang, Z., Stamler, J. S., Lugogo, N. L., & Kraft, M. S-nitrosoglutathione reductase: An important regulator in human asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009; 180 (3): 226-231.

Quinlan, D. J., McQuillan, A., & Eikelboom, J. W. Low-molecular-weight heparin compared with intravenous unfractionated heparin for treatment of pulmonary embolism: A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med.* 2004; 140 (3): 175-183.

Radomski, M. W., Palmer, R. M., & Moncada, S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: Interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol.* 1987a; 92 (3): 639-646.

Radomski, M. W., Palmer, R. M., & Moncada, S. Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. *Br J Pharmacol.* 1987b; 92 (1): 181-187.

Radomski, M. W., Palmer, R. M., & Moncada, S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet.* 1987c; 2 (8567): 1057-1058.

Radomski, M. W., Palmer, R. M., & Moncada, S. The role of nitric oxide and cgmp in platelet adhesion to vascular endothelium. *Biochem Biophys Res Commun.* 1987d; 148 (3): 1482-1489.

Ramagopalan, S. V., Carroll, R., Ulvestad, M., Mehmud, F., & Alikhan, R. The changing face of venous thromboembolism management in england. *Future Cardiol.* 2019.

Rao, G. H., Krishnamurthi, S., Rajj, L., & White, J. G. Influence of nitric oxide on agonist-mediated calcium mobilization in platelets. *Biochem Med Metab Biol.* 1990; 43 (3): 271-275.

Rees, D. D., Palmer, R. M., & Moncada, S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989; 86 (9): 3375-3378.

Roy, A., Khan, A. H., Islam, M. T., Prieto, M. C., & Majid, D. S. Interdependency of cystathione gamma-lyase and cystathione beta-synthase in hydrogen sulfide-induced blood pressure regulation in rats. *Am J Hypertens.* 2012; 25 (1): 74-81.

Rushing, A. M., Donnarumma, E., Polhemus, D. J., Au, K. R., Victoria, S. E., Schumacher, J. D., Goodchild, T. T. Effects of a novel hydrogen sulfide prodrug in a porcine model of acute limb ischemia. *J Vasc Surg.* 2019; 69 (6): 1924-1935.

Ryan, T. J., Anderson, J. L., Antman, E. M., Braniff, B. A., Brooks, N. H., Califf, R. M., Weaver, W. D. Acc/aha guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction. A report of the american college of cardiology/american heart association task force on practice guidelines (committee on management of acute myocardial infarction). *J Am Coll Cardiol.* 1996; 28 (5): 1328-1428.

Saha, S., Chakraborty, P. K., Xiong, X., Dwivedi, S. K., Mustafi, S. B., Leigh, N. R., Bhattacharya, R. Cystathionine beta-synthase regulates endothelial function via protein s-sulfhydration. *FASEB J.* 2016; 30 (1): 441-456.

Samama, M., Bernard, P., Bonnardot, J. P., Combe-Tamzali, S., Lanson, Y., & Tissot, E. Low molecular weight heparin compared with unfractionated heparin in prevention of postoperative thrombosis. *Br J Surg.* 1988; 75 (2): 128-131.

Sattler, R., Xiong, Z., Lu, W. Y., Hafner, M., MacDonald, J. F., & Tymianski, M. Specific coupling of nmda receptor activation to nitric oxide neurotoxicity by psd-95 protein. *Science.* 1999; 284 (5421): 1845-1848.

Sausbier, M., Schubert, R., Voigt, V., Hirneiss, C., Pfeifer, A., Korth, M., Hofmann, F. Mechanisms of no/cgmp-dependent vasorelaxation. *Circ Res.* 2000; 87 (9): 825-830.

Schlossmann, J., Ammendola, A., Ashman, K., Zong, X., Huber, A., Neubauer, G., Ruth, P. Regulation of intracellular calcium by a signalling complex of irag, ip3 receptor and cgmp kinase ibeta. *Nature.* 2000; 404 (6774): 197-201.

Sealey, J. E., Gerten, J. N., Ledingham, J. G., & Laragh, J. H. Inhibition of renin by heparin. *J Clin Endocrinol Metab.* 1967; 27 (5): 699-705.

Seltzer, J. L., & Gerson, J. I. Decrease in arterial pressure following heparin injection prior to cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1979; 23 (6): 575-578.

Shibuya, N., Mikami, Y., Kimura, Y., Nagahara, N., & Kimura, H. Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide. *J Biochem.* 2009; 146 (5): 623-626.

Simon, D. I., Stamler, J. S., Loh, E., Loscalzo, J., Francis, S. A., & Creager, M. A. Effect of nitric oxide synthase inhibition on bleeding time in humans. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995; 26 (2): 339-342.

Sivarajah, A., Collino, M., Yasin, M., Benetti, E., Gallicchio, M., Mazzon, E., Thiemermann, C. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of hydrogen sulfide in a rat model of regional myocardial i/r. *Shock.* 2009; 31 (3): 267-274.

Song, W., Ci, H., Tian, G., Zhang, Y., & Ge, X. Edoxaban improves venous thrombosis via increasing hydrogen sulfide and homocysteine in rat model. *Mol Med Rep.* 2017; 16 (5): 7706-7714.

Stamler, J. S., & Hess, D. T. Nascent nitrosylases. *Nat Cell Biol.* 2010; 12 (11): 1024-1026.

Stamler, J. S., Loh, E., Roddy, M. A., Currie, K. E., & Creager, M. A. Nitric oxide regulates basal systemic and pulmonary vascular resistance in healthy humans. *Circulation.* 1994; 89 (5): 2035-2040.

Stauss, H. M., Godecke, A., Mrowka, R., Schrader, J., & Persson, P. B. Enhanced blood pressure variability in enos knockout mice. *Hypertension.* 1999; 33 (6): 1359-1363.

Straub, A. C., Billaud, M., Johnstone, S. R., Best, A. K., Yemen, S., Dwyer, S. T., Isakson, B. E. Compartmentalized connexin 43 s-nitrosylation/denitrosylation regulates heterocellular communication in the vessel wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31 (2): 399-407.

Szabo, C. Roles of hydrogen sulfide in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. *Antioxid Redox Signal.* 2012; 17 (1): 68-80.

Szabo, C. Hydrogen sulfide, an enhancer of vascular nitric oxide signaling: Mechanisms and implications. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2017; 312 (1): C3-C15.

Szabo, C., Coletta, C., Chao, C., Modis, K., Szczesny, B., Papapetropoulos, A., & Hellmich, M. R. Tumor-derived hydrogen sulfide, produced by cystathionine-beta-synthase, stimulates bioenergetics, cell proliferation, and angiogenesis in colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110 (30): 12474-12479.

Tang, G., Yang, G., Jiang, B., Ju, Y., Wu, L., & Wang, R. H₂S is an endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Antioxid Redox Signal.* 2013; 19 (14): 1634-1646.

Tangphao, O., Chalon, S., Moreno, H. J., Jr., Abiose, A. K., Blaschke, T. F., & Hoffman, B. B. Heparin-induced vasodilation in human hand veins. *Clin Pharmacol Ther.* 1999; 66 (3): 232-238.

Tasatargil, A., Golbasi, I., Sadan, G., & Karasu, E. Unfractionated heparin produces vasodilatory action on human internal mammary artery by endothelium-dependent mechanisms. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2005; 45 (2): 114-119.

Toombs, C. F., Insko, M. A., Wintner, E. A., Deckwerth, T. L., Usansky, H., Jamil, K., Szabo, C. Detection of exhaled hydrogen sulphide gas in healthy human volunteers during intravenous administration of sodium sulphide. *Br J Clin Pharmacol.* 2010; 69 (6): 626-636.

Trepakova, E. S., Cohen, R. A., & Bolotina, V. M. Nitric oxide inhibits capacitative cation influx in human platelets by promoting sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase-dependent refilling of Ca^{2+} stores. *Circ Res.* 1999; 84 (2): 201-209.

Vallance, P., Collier, J., & Moncada, S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet.* 1989; 2 (8670): 997-1000.

Vellecco, V., Mancini, A., Ianaro, A., Calderone, V., Attanasio, C., Cantalupo, A., Bucci, M. Cystathionine beta-synthase-derived hydrogen sulfide is involved in human malignant hyperthermia. *Clin Sci (Lond).* 2016; 130 (1): 35-44.

Vellecco, V., Mitidieri, E., Gargiulo, A., Brancaleone, V., Matassa, D., Klein, T., Bucci, M. Vascular effects of linagliptin in non-obese diabetic mice are glucose-independent and involve positive modulation of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS)/caveolin-1 (cav-1) pathway. *Diabetes Obes Metab.* 2016; 18 (12): 1236-1243.

Wallace, J. L., & Wang, R. Hydrogen sulfide-based therapeutics: Exploiting a unique but ubiquitous gasotransmitter. *Nat Rev Drug Discov.* 2015; 14 (5): 329-345.

Wang, G. R., Zhu, Y., Halushka, P. V., Lincoln, T. M., & Mendelsohn, M. E. Mechanism of platelet inhibition by nitric oxide: In vivo phosphorylation of thromboxane receptor by cyclic gmp-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95 (9): 4888-4893.

Wang, R. Two's company, three's a crowd: Can h₂s be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J*. 2002; 16 (13): 1792-1798.

Wang, R. Physiological implications of hydrogen sulfide: A whiff exploration that blossomed. *Physiol Rev*. 2012; 92 (2): 791-896.

Wang, T., Wang, L., Zaidi, S. R., Sammani, S., Siegler, J., Moreno-Vinasco, L., Garcia, J. G. Hydrogen sulfide attenuates particulate matter-induced human lung endothelial barrier disruption via combined reactive oxygen species scavenging and akt activation. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2012; 47 (4): 491-496.

Wang, Y., Zhao, X., Jin, H., Wei, H., Li, W., Bu, D., . . . Du, J. Role of hydrogen sulfide in the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein e knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29 (2): 173-179.

Wilson, S. K., Solez, K., Boitnott, J. K., & Heptinstall, R. H. The effects of heparin treatment on hypertension and vascular lesions in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Am J Pathol*. 1981; 102 (1): 62-71.

Wolin, M. S. Interactions of oxidants with vascular signaling systems. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20 (6): 1430-1442.

Wong, P. T., Qu, K., Chimon, G. N., Seah, A. B., Chang, H. M., Wong, M. C., Chen, C. P. High plasma cyst(e)ine level may indicate poor clinical outcome in patients with acute stroke: Possible involvement of hydrogen sulfide. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2006; 65 (2): 109-115.

Word, R. A., Tang, D. C., & Kamm, K. E. Activation properties of myosin light chain kinase during contraction/relaxation cycles of tonic and phasic smooth muscles. *J Biol Chem.* 1994; 269 (34): 21596-21602.

Xie, Z. Z., Liu, Y., & Bian, J. S. Hydrogen sulfide and cellular redox homeostasis. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016: 6043038.

Yates, M. T., Lambert, L. E., Whitten, J. P., McDonald, I., Mano, M., Ku, G., & Mao, S. J. A protective role for nitric oxide in the oxidative modification of low density lipoproteins by mouse macrophages. *FEBS Lett.* 1992; 309 (2): 135-138.

Yuan C, Hou HT, Chen HX, Wang J, Wang ZQ, Chen TN, Novakovic A, Marinko M, Yang Q, Liu ZG, He GW. Hydrogen sulfide-mediated endothelial function and the interaction with eNOS and PDE5A activity in human internal mammary arteries. *J Int Med Res.* 2019 Jun 2:300060519847386. doi:10.1177/0300060519847386.

Zhang, H., Luo, Y., Zhang, W., He, Y., Dai, S., Zhang, R., Min, W. Endothelial-specific expression of mitochondrial thioredoxin improves endothelial cell function and reduces atherosclerotic lesions. *Am J Pathol.* 2007; 170 (3): 1108-1120.

Zhao, W., Ndisang, J. F., & Wang, R. Modulation of endogenous production of h₂s in rat tissues. *Can J Physiol Pharmacol.* 2003; 81 (9): 848-853.

Zhao, W., Zhang, J., Lu, Y., & Wang, R. The vasorelaxant effect of h₂s as a novel endogenous gaseous k(atp) channel opener. *EMBO J.* 2001; 20 (21): 6008-6016.

Zhao, Y., Vanhoutte, P. M., & Leung, S. W. Vascular nitric oxide: Beyond enos. *J Pharmacol Sci.* 2015; 129 (2): 83-94.

Zhu, Y. Z., Wang, Z. J., Ho, P., Loke, Y. Y., Zhu, Y. C., Huang, S. H., . . . Moore, P. K. Hydrogen sulfide and its possible roles in myocardial ischemia in experimental rats. *J Appl Physiol (1985).* 2007; 102 (1): 261-268.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Begüm	Uyruğu	T.C.
Soyadı	Turan	Tel no	05064452262
Doğum tarihi	08.03.1992	e-posta	begumturan07@gmail.com

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	Antalya Yusuf Ziya Öner Fen Lisesi	2010
Lisans	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2016
Yüksek Lisans		
Doktora		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Eczacı	Duru Eczanesi	2017-halen
Yardımcı Eczacı	Özer Eczanesi	06.2016-09.2016
Stajyer Eczacı	Toprak Eczanesi	10.2015-05.2016
Stajyer Eczacı	Kerem Eczanesi	06.2013-08.2013
Stajyer Eczacı	University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno Diploma Tezi (The Role of The Pharmacist In The Treatment of Type 2 Diabetes, Brno, 2014)	06.2014-09.2014

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce Okuma:ileri, Yazma:iyi, Konuşma:iyi	YDS	47,5
Almanca Okuma:başlangıç, Yazma:başlangıç, Konuşma: başlangıç		

Yayınlar ve Bildiriler:

'Tip 2 Diyabet Tedavisinde Eczacının Rolü' bildiri poster sunumu, İVEK Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi ,Kasım 2014.

'Anadolu'da Bir Eczacı: Vasıf Otyam' bildiri sunumu, X. Türk Eczacılık Tarihi Toplantısı,Haziran 2012.