

İskemik ön koşullanma ve sonradan koşullanma mekanizmaları olarak intraselüler sinyalizasyon ve adenozin

Intracellular signalization and adenosine as mechanisms of ischemic preconditioning and post conditioning

İlker Şengül, Demet Şengül

Genel Cerrahi Anabilim Dalı (Yrd. Doç. Dr. İ. Şengül), Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, TR-28100 Giresun; Patoloji Kliniği (Uzm. Dr. D. Şengül), Prof. Dr. A. İlhan Özdemir Devlet Hastanesi, TR-28100 Giresun.

Özet

İskemi reperfüzyon hasarı, deoksijene dokunun resirkülasyonu sırasında oluşan patofizyolojik değişiklikler serisidir. İskemi reperfüzyon hasarının potansiyel mekanizması; hipoksiyi, reperfüzyon ile salınan serbest oksijen radikallerini ve inflamatuvar medyatörleri içermektedir. Primer iskemik hasar; son ürünlerin ve kan akımının azalmasına bağlı oluşan anaerobik metabolizmanın toksik ürünlerinin birikimi sonucunda ortaya çıkmaktadır. Ancak, reperfüzyon hasarı nda, serbest oksijen radikallerinin, doku hasarına doğrudan kendileri etkiyerek ve hücrel antioksidan sistemleri yetersizleştirilmesi yatmaktadır. İskemik ön koşullanmada lokal olarak salınan agonistler; sinyalizasyon yolunu, G proteinine bağlı olan reseptörlerin aktivasyonu yoluyla tetikler. İskemik ön koşullanma yoluyla olan adaptasyon; adenozin etkisi ile oluşan, KATP (Potasyum-ATP) kanal aktivasyonu tarafından yaratılır. İskemik sonradan koşullanmanın ise; ERK ½ (Ekstraselüler sinyal regüle kaskad ½) ile mitokondriyal KATP kanallarının aktivasyonuna ve NO (Nitrik oksit) üretimine bağlı olduğu ve anılan fenomenin koruyucu etkisi için adenozin reseptörlerinin kullanıldığı ve gunilil siklaz ile PI3 (Fosfatidil inozitol3)-kinaz aktivasyonuna gereksinim olduğu ileri sürülmüştür.

Anahtar sözcükler: Adenozin, intraselüler sinyalizasyon, iskemik, ön koşullanma, sonradan koşullanma.

Abstract

Ischemia reperfusion injury is the series of pathophysiological changes occurring in consequence of recirculation in the deoxygenated tissue. The potential mechanism of ischemia reperfusion injury includes tissue hypoxia, free oxygen radicals arising from the course of reperfusion, and inflammatory mediators. Primary ischemic injury appears as a consequence of accumulation of end products and toxic products of anaerobic metabolism which is occurred by insufficient circulation. But, in the concept of reperfusion injury; free oxygen radicals directly causes tissue injury via affecting themselves and producing inadequacy of cellular antioxidant systems. In ischemic pre - conditioning, locally released agonists trigger signalization way via activating receptors which are bounded to G protein. The adaptation via ischemic pre - conditioning is created by activation of KATP (Potassium-ATP) channels by the effect of adenosine. In the aspect of ischemic post - conditioning; it is propounded that this phenomenon depends on activation of mitochondrial KATP channels and ERK ½ (extracellular signal-regulated kinase cascade) and production of NO (Nitric oxide) and for the protective effect of the mentioned phenomenon, adenosine receptors are used and activation of PI3 (phosphatidyl inositol3) - kinase and guanylyl cyclase are needed.

Keywords: Adenosine, intracellular signalization, ischemic, preconditioning, post conditioning.

Geliş tarihi/Received: 14 Eylül 2009; **Kabul tarihi/Accepted:** 18 Aralık 2009

İletişim adresi:

Dr. İlker Şengül, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, TR-28100 Giresun. E-posta: dr.ilker52@mynet.com

İskemik ön koşullanmadaki etkileri

İskemi reperfüzyon hasarı (IRH), oksijenasyonu bozulmuş dokudaki kan akımının yeniden sağlanması sonucunda oluşan, bir dizi patofizyolojik değişikliklerdir. Doku hipoksisi, reperfüzyon sırasında serbest oksijen radikallerinin oluşması ve inflamatuvar mediatörlerin ortaya çıkması IRH potansiyel mekanizmasını oluşturmaktadır [1]. Primer iskemik hasarı, kan akımındaki azalma ve oksijenin yetersiz dağılımına bağlı olarak, anaerobik metabolizmanın son ürünlerinin ve toksik ürünlerin birikimi yaratırken; reperfüzyon hasarını ise, serbest oksijen radikalleri, doğrudan etki ile veya hücrel antioksidan sistemlerini yetersiz kılarak oluşturmaktadır [2].

İskemik ön koşullanmanın (İÖ) sinyalizasyon yolunu, adenozin, bradikinin, katekolaminler, asetil kolin, anjiotensin II, ve opioidler gibi lokal olarak salınan agonistlerin G proteinine bağlı reseptörleri aktive etmesi başlatır. Reseptör aktivasyonu ile protein kinaz C (PKC), protein tirozin kinaz (PTK), ve mitojen aktive protein kinaz (MAPK) ailesinin üyeleri fosforile olarak uyarılır [3-7]. PKC, hem İÖ hem de kalsiyuma (Ca⁺⁺) bağlı ön koşullanmada önemli rol oynar [8, 9]. MAPK ailesi içinden özellikle p38'in, MAPK'ın cevapta önemli olduğu bilinmektedir [10].

Nishizuka ve ark. [9], fosfatidil 4,5 bifosfat ve diaçil gliserolün (DAG), fosfolipaz C ile hidrolizlenerek aktifleşmesinde PKC ve Ca⁺⁺ depo organellerinin rolünü raporlamıştır. Hücre içi Ca⁺⁺ arttıkça bazı PKC izoformlarını aktive etmek için gerekli olan fosfolipit hidrolizi azalmakta ve bu nedenle, kalsiyum değişimleri İÖ indüksiyonunda görev almaktadır. Ön koşullanma protokolüne ve çalışılan türe göre, bahsedilen mediatörlerin çoğu İÖ'nün gelişimine katkıda bulunabilir ve türe spesifik mediatör, öncelikli olabilir. Spesifik reseptör ligantlarıyla yapılan deneyler; iskemi sırasında salınabilen yukarıda sayılan agonistler ve ROS (Reactive oxygen species)'in ön koşullanma cevabında tetikleyici rol oynayabileceğini raporlamıştır [11].

Potasyum-ATP (KATP) kanallarının adenozinin etkisi ile aktifleşmesi sonucunda, İÖ yoluyla adaptasyon meydana gelmektedir. Deneysel çalışmalarda, IRH sırasında, aktif KATP kanallarının Ca⁺⁺ girişini sınırladığı bildirilmiştir. Miyawaki ve ark. [12]; adenozin A1 uyarımlı İÖ ile Ca⁺⁺ yüklenmesinin azaldığını göstermişlerdir. Adenozin A1 aktivasyonu, KATP kanallarını açar ve Ca⁺⁺ girişi azaltır. Böylece IRH sırasında hemostazi, reseptör aracılıklı iyon transport sistemi sağlamaktadır.

Miyokard iskemisinde adenozinin birçok yararlarından bahsedilir [13, 14]. Hipoperfüzyonda koroner arterde vazodilatasyonu sağlayarak gelen oksijen miktarını artırmak ve negatif inotropik etki oluşturarak miyokardın oksijen ihtiyacını azaltmak adenozinin koruyucu etkileridir [15]. Tavşanda adenozin A1 reseptörlerinin uyarılmasının erken korumanın hem bir mediyatörü hemde tetikleyicisi olduğu düşünülmektedir. Ancak gecikmiş korumanın da adenozin ile ilgili mekanizmalar ile başlayabileceği ileri sürülmüştür [16].

Adenozin, kardiyak etkilerini A1 ve A2 reseptörleri aracılığıyla göstermektedir. Adenozin A1 reseptörünün adenozinle veya selektif adenozin A1 reseptör agonistleri ile uyarılması da iskemik ön koşullanma gibi miyokardial IRH'yi azaltıcı etki yapmaktadır. Adenozin A1 reseptörünün farmakolojik antagonizmasının, İÖ'nün koruyucu etkisini ortadan kaldırdığı görülmüştür [17]. Claeys ve ark. [18], anjiyoplasti sırasında, adenozin reseptör antagonisti aminofilinin iskemiye adaptasyonu inhibe ettiğini ve böylece insanlarda da adenozin reseptör antagonistlerinin uyarımı ile İÖ'nün inhibe olabileceğini bildirmişlerdir. Adenozinle oluşturulan korumanın mekanizmasında; birçok hayvan

türünde ve insanda, PKC ve KATP kanal aktivasyonu rol oynamaktadır [19].

Erişkin rat kardiyomiyositleri; uzun süreli hipoksi ve reoksijenasyon öncesinde, hipoksik İÖ'ya tabi tutulduğunda, Protein kinaz B (PKB) fosforile olurken, nekroz ve apoptoziste düşüş gözlenmiştir. Tavşan kalbinde, PKB ve nitrik oksit sentetaz (NOS)'u içeren bir yolla asetil kolin ve bradikininin, İÖ'yü tetiklediği gösterilmiştir [22]. Hausenloy ve ark [20], izole rat kalbinde İÖ'nün, PKB, Ekstraselüler sinyal-regüle kinaz kaskadı (ERK) 1/2 ve p70S6K'nın fosforilasyonu yoluyla Reperfusion injury salvage kinase (RISK) yolunu aktive ettiğini göstermişlerdir. RISK yolu farmakolojik inhibisyona uğradığında, infarkt alanı sınırlayıcı etki kaybolmaktadır [21].

Sonradan koşullanmadaki etkileri

RISK yolu, sonradan koşullanmada (SK) da rol oynamaktadır. PKB, ERK1/2 gibi p70S6K da sonradan koşullanmada fosforile edilmektedir [23]. İn - situ tavşan kalbi, ERK1/2 inhibitörü verildiğinde [24] ve yine izole rat kalbi, PKB-PI3K (Phosphatidylinositol 3-kinase) yolu inhibe edildiğinde, SK tarafından korunamayabilmektedir [23]. Jiang ve ark. [25] yüksek moleküler ağırlıklı "fibroblast growth fakör 2" SK benzeri kardiyoprotektif etkisini, MAPK ailesinin ERK1/2 dışındaki diğer üyelerinden olan PKC'nin izoformları olan PKB ve p70 S6 kinaz aktivasyonu yoluyla yükselttiğini bildirmişlerdir.

Krolikowski ve ark. [26] in vivo bir tavşan kalbi modelinde, MEK (Mitogen activated protein kinase kinase) 1/2 inhibitörü olan PD98059 veya NOS inhibitörü olan L-NAME (Nw-nitro-L-arginine methyl-ester) SK süresince uygulandığında, kardiyak koruyucu etkinin kaybolduğunu göstermiştir. Ek olarak, MEK 1/2 ve ERK 1/2 kaskadlarının ve NOS'un, SK'da kardiyak koruyucu etki için gerekli olabileceği kanısına varılmıştır.

Bununla birlikte bu çalışmada, SK'nın ERK 1/2 veya eNOS tarafından direkt olarak aktive edildiği gösterilmemiştir [26]. Fakat, Tsang ve ark. [23] yaptığı bir çalışmada koruyucu etkinin, PI3K-PKB yolu ve bu yolun eNOS ve p70S6K adlı hedefleri yoluyla olduğu gösterilmiştir. SK'nın daha sonra mitokondriyal KATP (mKATP) kanalları, ERK ½ aktivasyonu ve NO (nitrik oksit) üretimine bağlı olduğu gösterilmiş ve aynı çalışmada SK'nın koruyucu etkisinin, kandaki faktörlere bağımlı olmayıp, adenosin reseptörlerini kullandığı ve bu etki için PI3-kinaz ve guanilil siklaz aktivasyonunun gerekliliği öne sürülmüştür [27].

Reperfüzyon sırasında, iki adenosin agonisti, AMP579 [27, 28] ve NECA (5'-"N-ethylcarbomaxido" adenosine)'nin [27, 29], SK modelinde reperfüzyon sırasında uygulandığında koruyucu olduğu görülmüş. Reperfüzyon sırasında uygulandığında, AMP579 gibi adenosine A1/A2 reseptör agonistlerinin de infarkt alanını azalttığı gösterilmiştir. NECA'nın yanında diğer adenosine A1/A2 reseptör agonistleri, bradikininin [27, 29], TGF-β1 (transforming growth factor- beta1) [31], insülin [30] ile de benzer etkilenimler gözlenmiştir. Bütün bu farmakolojik ajanlar arasında, PI3-kinaz ve/veya ERK'ya bağımlı ortak bir yol olduğu düşünülmektedir. İlgili klinik testler birkaç araştırmacıyla sınırlı olduğu için, bu ajanların insan yararına kullanımı henüz uygun değildir [29]. Gross ve ark. [32], morfini in situ rat preparatlarına reperfüzyondan 5 dk. önce uygulanmış, ve infarkt alanını azalttığını göstermiştir. Yine bu çalışmada, opioidlerin kardiyoprotektif etkisinin, reperfüzyon süresince glikojen sentaz kinaz β inhibisyonu yoluyla ortaya çıktığı öne sürülmüştür.

Özetle; oksijenasyonu bozulmuş dokudaki kan akımının yeniden sağlanmasıyla oluşan, bir dizi patofizyolojik değişikliklerle karakterize IRH'yi azaltmak amacıyla yaratılan İÖ ve SK'nın dokudaki protektif etkisi ile ilgili bugüne kadar birçok mekanizma öne sürülmüştür. Mekanizmalar ve etkinlikleri ile ilgili daha ileri ve multidisipliner çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Xu DZ, Lu Q, Kubicka R, Deitch EA. The effect of hypoxia/reoxygenation on the cellular function of intestinal epithelial cells. *J Trauma* 1999; 46: 280-5.
2. Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC, Fry D, Maier RV. Multiple-organ-failure syndrome. *Arch Surg* 1986; 121: 196-208.
3. Armstrong SC. Protein kinase activation and myocardial ischemia- reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004;61:427-36.
4. Murphy E. Primary and secondary signaling pathways in early preconditioning converge in mitochondria to produce cardioprotection. *Circ Res* 2004; 94: 7-16.
5. Stumpner J, Redel A, Kellermann A, Lotz CA, Blomeyer CA, Smul TM, Kehl F, Roewer N, Lange M. Differential role of Pim-1 kinase in anesthetic-induced and ischemic preconditioning against myocardial infarction. *Anesthesiology* 2009;111:1257-64.
6. Sadat U. Signaling pathways of cardioprotective ischemic preconditioning. *Int J Surg* 2009;7:490-8.
7. Xuan YT, Guo Y, Zhu Y, Wang OL, Rokosh G, Messing RO, Bolli R. Role of the protein kinase C-epsilon-Raf-1-MEK-1/2-p44/42 MAPK signaling cascade in the activation of signal transducers and activators of transcription 1 and 3 and induction of cyclooxygenase-2 after ischemic preconditioning. *Circulation* 2005; 112: 1971-8.
8. Downey JM, Cohen MV. Arguments is favor of protein kinase C playing an important role in ischemic preconditioning. *Basic Res Cardiol* 1997; 92: 37-9.
9. Nishizuka Y. Intracellular signalling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science* 1992;258:607-10.
10. Dreixler JC, Barone FC, Shaikh AR, Du E, Roth S. Mitogen-activated protein kinase p38alpha and retinal ischemic preconditioning. *Exp Eye Res* 2009; 89: 782-90.
11. Harun E, Dursun D, Ender S. İskemik ön koşullanma. *Anadolu Kardiyol Derg* 2003; 3 :144-9.
12. Miyawaki H, Ashraf M. Ca²⁺ as a mediator of ischemic preconditioning. *Circ Res* 1997; 80:790-4.
13. Rork TH, Wallace KL, Kennedy DP, Marshall MA, Lankford AR, Linden J. Adenosine A2A receptor activation reduces infarct size in the isolated, perfused mouse heart by inhibiting resident cardiac mast cell degranulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;295:H1825-33
14. Balakumar P, Singh H, Reddy K, Anand-Srivastava MB. Adenosine-A1 Receptors Activation Restores the Suppressed Cardioprotective Effects of Ischemic Preconditioning in Hyperhomocysteinemic Rat Hearts. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009; 54: 204-12.
15. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AM, Olsson RA, Downey JM. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991; 84: 350-6.
16. Baxter GF, Marber MS, Patel VC, Yellon DM. Adenosine receptor involvement in a delayed phase of myocardial protection 24 hours after ischemic preconditioning. *Circulation* 1994; 90: 2993-3000.
17. Wong J, Drake L, Sajjadi F, Fristen GS, Mullane KM, Bulloough DA. Dual activation of adenosine A1 and A3 receptors mediates preconditioning of isolated cardiac myocytes. *Eur J Pharmacol* 1997;320:241-8.
18. Claeys MJ, Vrints CJ, Bosmans JM, Conraads VM, Snoeck JP. Aminophylline inhibits adaptation to ischaemia during angioplasty. Role of adenosine in ischaemic preconditioning. *Eur Heart J* 1996;17:539-44.
19. Cleveland JC, Meldrum DR, Rowland RT, Banerjea A, Harken AH. Adenosine preconditioning of human myocardium is dependent upon the ATP-sensitive potassium channel. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 175-81.
20. Hausenloy DJ, Tsang A, Mocanu MM, Yellon DM. Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005 ; 288: 971-6.

21. Uchiyama T, Engelman RM, Maulik N, Das DK. Role of Akt signaling in mitochondrial survival pathway triggered by hypoxic preconditioning. *Circulation*. 2004;109:3042-9.
22. Krieg T, Qin Q, Philipp S, Alexeyev MF, Cohen MV, Downey JM. Acetylcholine and bradykinin trigger preconditioning in the heart through a pathway that includes Akt and NOS. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: 2606-11.
23. Tsang A, Hausenley DJ, Mocanu MM, Yellon DM. Postconditioning: a form of "modified reperfusion" protects myocardium by activating Phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Circ Res* 2004;95:230-2.
24. Yang X-M, Proctor JB, Cui L, Krieg T, Downey JM, Cohen MV. Multiple brief coronary occlusions during early reperfusion protects rabbit hearts by targeting cell signal pathways. *J Am Coll* 2004;44:1103-10.
25. Jiang ZS, Wen GB, Tang ZH, Srisakuldee W, Fandrich RR, Kardami E. High molecular weight FGF-2 promotes postconditioning-like cardioprotection linked to activation of the protein kinase C isoforms Akt and p70 S6 kinase. *Can J Physiol Pharmacol* 2009;87:798-804.
26. Krolkowski JG, Weihrauch D, Bienengraeber M, Kersten JR, Wartier DC, Pagel PS. Role of Erk1/2, p70s6K, and eNOS in isoflurane-induced cardioprotection during early reperfusion in vivo. *Can J Anaesth* 2006;53:174-82.
27. Yang XM, Downey JM, Cohen MV. Postconditioning's protection is not depended on circulating blood factors or cells but requires PI3-kinase and guanyl cyclase activation. *Circulation* 2004; 110:111-68.
28. Xu Z, Yang X-M, Cohen MV, Neumann T, Heush G, Downey JM. Limitation of infarct size in rabbit hearts by the novel adenosine receptor agonist AMP 579 administered at reperfusion. *J Moll Cell Cardiol* 2000;32:2339-47.
29. Yang X-M, Krieg T, Cui L, Downey JM, Cohen MV. NECA and bradykinin reperfusion reduce infarction in rabbit hearts by signaling through PI3K, ERK and NO. *J Moll Cell Cardiol* 2004;36:411-21.
30. Danielisová V, Gottlieb M, Némethová M, Burda J. Effects of bradykinin postconditioning on endogenous antioxidant enzyme activity after transient forebrain ischemia in rat. *Neurochem Res* 2008;33:1057-64.
31. Jonassen AK, Sack MN, Mjos OD, Yellon DM. Myocardial protection by insulin requires early administration and is mediated via Akt and p70S6 kinase cell-survival signaling. *Circ Res* 2001;89:1191-8.
32. Gross ER, Hsu AK, Gross GJ. Opioid induced cardioprotection occurs via glycogen synthase kinase beta inhibition during reperfusion in intact rat hearts. *Circ Res* 2004;94:960-6.