

# Güncel ve Etkin Bir Transmitter: Nitrik Oksid

Prof. Dr. Nazmi GÜLTEKİN, Doç. Dr. Murat ERSANLI, Dr. Emine KÜÇÜKATEŞ  
İstanbul Üniversitesi, Kardiyoloji Enstitüsü, İstanbul

## ÖZET

Vasküler endotel kan akımı ve damar tonusunu sağlayan en önemli etmenlerden biridir. Endotel fonksiyon bozukluğunda ise nitrik oksidin (NO) sentez ve salınımının azaldığı veya yıkımının arttığı görülmektedir. Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olan NO insan vücudunda çok çeşitli hücre tarafından salgılanan en önemli fizyolojik transmitterlerden biridir. NO bir amino asit olan L-argininden asetikolin, bradikinin, P maddesi, trombin, ADP, ATP, kalsium, tromboksan A<sub>2</sub> histamin, endotelin ve agregre trombositlerin NO sentezi uyarması ile sentez edilir. Ayrıca akım kuvveti (Shear stress), kan basıncı ve pulsatil gerginlik gibi mekanik güçler de NO sentezinde etkindir. NO vasküler düz kaslardaki guanilat siklazı uyararak yaptığı vazodilatasyon ile kan basıncı ve damar tonusu dengesini sağlayan temel maddelerden biridir. Ayrıca trombosit ve lökosit fonksiyonlarının kontrolünde de önemli rolü bulunmaktadır. Ateroskleroz, iskemik kalp hastalığı, kalp yetersizliği, hipoksi, diabet ve hipertansiyonda azalan vasküler rezerv ve vazodilatasyondan NO etkinliğinin azalması sorumlu tutulabilir. Organik nitratla da hücre içi NO ve S-nitrozotiolelere metabolize olmakta ve guanilat siklazı aktive ederek vazodilatasyon yapmaktadırlar, ancak endogen NO'nun etkili olduğu çok küçük damarlarda etkisizdirler. Gelecekte yapılacak birçok deney ve klinik çalışma ateroskleroz, iskemik kalp hastalığı, hipertansiyon, trombosit fonksiyon bozukluğu ve diğer birçok hastalığın tedavisinde yer alacak olan yeni NO-vericileri ve NO-sentez inhibitörlerini belirleyecektir.

**Anahtar kelimeler:** Nitrik oksit (NO), endotel, vazodilatasyon

Endotel hücreleri uzun yıllar yalnızca kan ve damar düz kası arasında yarı geçirgen ve damar duvarını koruyucu bir bariyer olarak düşünülmüştür (1). Son 20 yıldır yapılan çalışmalar ise endotelin damar düz kas mitojenitesi, vasküler tonus, trombositlerin anti-adeziv ve antiagregan etkileri, lökosit fonksiyonları, koagülasyon mekanizması, angiogenez, tümör büyüme ve yayılması üzerinde aktif rol oynayan kompleks bir organ sistemi olduğunu göstermişlerdir (1-4). Nitekim erişkindeki toplam endotel kütlesi 1,5 kg ile yaklaşık olarak karaciğer kütlesi kadardır ve toplam

6x10<sup>23</sup> adet hücre ile 700-1000 m<sup>2</sup>'lik bir yüzey oluşturmaktadır (5). 1976'da Moncada ve ark. (6) endotel kaynaklı etkin vazodilatatör ve antigregan özellikleri olan prostasiklini keşfetmişlerdir. Dört yıl sonra Furchgott ve Zawadzki (7) asetilkolinin yalnızca sağlam endotelli arterlerde vazodilatasyon yaptığını ve "Endotel kaynaklı gevşetici faktör" (Endothelial-derived relaxant factor, EDRF) diye isimlendirdikleri bir faktörün burada rol oynadığını söylemişlerdir. Daha sonra 1987'de Moncada ve ark. (8) tarafından bu maddenin nitrik oksit (NO) gazı olduğu gösterilmiştir. Kısa sürede bu gevşetici faktörün (EDRF-NO) bilinen en güçlü vazodilatatörlerden biri ve periferik vasküler direncin önemli denetleyicisi olduğu anlaşılmıştır.

EDRF'nin etken maddesinin NO olduğunun gösterilmesinden sonra endotel hücrelerinde L-arginin nitrik oksit yolu bulunmuştur (9-10). L-arginin nitrik oksit sentaz (NO sentaz) enzimi tarafından oksidasyonu sonucunda L-sitrulin ve NO oluşmaktadır (9-11). NO sentezi mekanik güçler ve endotel reseptörlerine etkili çeşitli ajanlarla olmaktadır. Mekanik güçlerde en önemli etken dolaşan kan akımının husule getirdiği basınçtır (shear stress) (12), ancak burada kan basıncı ve pulsatil gerginlik de NO sentezinde etkili mekanik sebepler arasındadır (1,13). Sentezden sorumlu endotel reseptörlerine etkili ajanlar asetilkolin, P maddesi, bradikinin, kalsium ionofor A 23187, trombin, ATP, ADP, tromboksan A<sub>2</sub>, peptidolökotrienler, histamin, endotelin ve agregre trombositlerdir (13). L-argininin metillenmiş analoglu NG<sup>-</sup> monometil L-arginin (L-NMMA) bu enzimin yarışmalı (kompetitif) inhibisyonunu yapmakta ve biyolojik döngüde NO'nun rolü üzerinde bize önemli ip uçları vermektedir (14). Yapılan çalışmalarda kol arterine verilen L-NMMA'nın burada vazokonstriksiyon yaptığı, bununla beraber endotelden arındırılmış damar düz kas hücrelerinde kontraksiyon yapmadığı görülmüştür (11). NO sentaz insanda vasküler endotel, beyin, beyincik, makrofajlardan izole edilmiş olup moleküler ağırlığı 130 000 ile 155 000 arasında değişmek-

Alındığı tarih: 4 Ocak 1996  
Yazışma adresi: Prof Dr. Nazmi Gültekin, İstanbul Üniversitesi, Kardiyoloji Enstitüsü, 34304 Haseki, İstanbul

tedir (11). İzole edilen çeşitli tipteki NO sentazlardaki ortak özellik bunların tetrahidrobiopterin içermeleleri ve bu maddenin enzim aktivitesinde önemli bir kofaktör olarak rol oynamasıdır (11). NO sentezi bazal (reseptör uyarısına yanıt olarak kısa dönemli NO sentezi) ve indüklenebilen olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (15). İndüklenebilen NO sentezi bazal NO sentezine göre daha hızlı olmakta ve sitotoksik etkileri de görülebilecek oranda daha yüksek konsantrasyonda NO sentezini içermektedir. Kalsium ve kalmodulin NO sentazi denetleyen, bazal ve indüklenen NO sentazın ayırıcı tanısının yapıldığı iki önemli maddedir (11,15,16). Bazal NO sentezinde kalsium ve kalmodulin etkilidir; endotel hücreleri, trombositler ve sinir hücrelerinde NO sentezi bu şekilde olmaktadır (15, 16) İndüklenebilen NO sentezi ise daha çok makrofajlar ve düz kas hücrelerinde olup, kalsium ve kalmodulinden bağımsızdır. Bakteri endotoksinleri ve sitokinler burada etkili olmaktadır (11,15,16). Nitekim glukokortikoidler özellikle makrofajlardaki kalsiumdan bağımsız ve indüklenebilen NO sentezini inhibe ederken bazal NO sentezine etkisizdirler. Bu bakımdan septik şoktaki vazodilatasyon ve hipotansiyonu önlemede indüklenebilen NO sentaz inhibitörü olarak glukokortikoidlerden yararlanılması düşünülmektedir (11,15,17-19). NO öncülü L-arginin analogları, NO sentezinin yarışmalı inhibitörleri olarak kullanılırlar. İnhibitörlerin her iki sentez sırasındaki afiniteleri farklıdır. L-NMMA enzimin her iki biçimini eşit olarak inhibe ederken, aminoguanidin daha çok indüklenebilen NO sentaz üzerinde etkilidir (14,15,20). Her iki inhibitör de sentetik olup, insan plasmasında doğal olarak bulunan metil argininler, hemoglobin, özellikle LDL olmak üzere VLDL ve HDL gibi lipoproteinler NO yolunda fizyolojik düzenleyiciler olarak rol oynayabilirler (15,16).

Nitrik oksit renksiz bir gaz olup, oksijensiz ortamda suda çözülür. Havada ise hızla oksijen ile reaksiyona girerek dokuya hasar verebilen koyu renkli nitrojen dioksit gazı haline gelmektedir (11). NO'nun hemoglobine afinitesi oksijene kıyasla 3000 kez daha fazladır, bu bakımdan inhalasyonda oksijen ile birleşmeden önce hemoglobin ile birleşmektedir (11,21). Su ve plasmada nitrite oksitlenerek bu şekilde saatlerce stabil kalabilmekte iken kanda hızla nitrate çevrilir. Bu bakımdan kandaki nitrat konsantrasyonu (30 µmol/litre) nitrit konsantrasyonuna

kıyasla 100 kez daha fazladır (11,22). Septik şokta ise farklı olarak nitrat ve nitrit konsantrasyonu yüksek bulunur (23). NO aynı zamanda diğer çeşitli nitrojen oksitlere yükseltgenerek sulfidril grubu içeren glutatyon, sistein, albümin gibi maddelere ve, yapısında hem maddesi içeren proteinler ve proteinler ve miyoglobine bağlanarak bu maddelerden gereğinde taşıyıcı olarak ta yararlanmaktadır (11). Nitrik oksit damarlarda düz kas hücresi içinde guanil siklazı etkinleştirerek guanosin trifosfattan 3-5 siklik guanosin monofosfat (c-GMP) oluşmasına yol açar. Daha sonra sırası ile intrasellüler kalsium ve miyozin hafif zincirlerinin defosforilasyonu azalır ve vazodilatasyon gerçekleşir (5,11,15,16).

NO sentez edildiği hücrelerin yalnızca çok yakınında etkili olmaktadır, bu hali ile parakrin bir hormon gibi de kabul edilmektedir (11,15). Ama yarı ömrü çok kısa ve lokal etkili bu molekül sistemik etkili bir hormon gibi de kabul edilebilir; çünkü hemen hemen bütün organlarda çok değişik farmakolojik etkilere sahiptir. NO'nun farmakolojik eylemlerini şu şekilde sıralayabiliriz:

- 1- Damar tonusunu düzenlenmesinde rol oynar, vazodilatör etki gösterir (11,13,15).
- 2- Trombosit işlevlerini inhibe eder (11,13,15).
- 3- Pulmoner NO pulmoner damarların tonusunu düzeltir, bronkospazmı azaltır. NO gazının ARDS'de lezyonu geriletmediği gösterilmiştir (2,11,13,15).
- 4- NO sindirim sisteminde mukoza koruyucu olarak rol oynamaktadır (24).
- 5- İmmün uyarıcılar ve enflamasyon mediatörleri makrofajlarda NO serbestleştirirler. Tümör hücresine sitotoksik olarak etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Böylece NO'un immün yanıtta önemli bir yeri olduğu anlaşılmaktadır (15,25,26).
- 6- NO'nun infekte makrofajlarda bakterisid etkisi olduğu gösterilmiştir (27).
- 7- NO'nun sıtma, kalazaz ve tüberküloz sorumlu parazit ve bakterilerine karşı koruyucu özelliği saptanmıştır. NO kanser kemoterapisinde kullanılan drog-lara, antiparazitlere ve antibiyotiklere additif etki gösterebilir (16,18,19).
- 8- NO insüline bağımlı DM'ta ve organ transplantasyonlarını izleyen rejeksiyon reaksiyonlarında da rol

oyun. Diyabetik hastalarda artan oksijen serbest radikalleri NO'yu tutmakta ve vazodilatasyonu azaltmaktadır. Ayrıca her iki durumda da NO serbestleştirilen makrofajların etkinleşmesi sorumludur (30,31).

**9-** Vazokonstrüksiyonla birlikte hipertansiyonlarda NO eksikliğinin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (1,15).

**10-** NO santral sinir sisteminde önemli bir nörotransmitter olarak kabul edilmektedir. Glia hücreleri ve nöronlardaki NO sentezi, cGMP sentezi ve glutamat reseptör etkinleşmesi arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (32,31). Santral sinir sisteminde glutamat ve NO miktar ve oranlarındaki değişikliklerin beyin gelişim ve işlev bozukluklarında sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Alzheimer ve Parkinson hastalığında da bu fizyopatoloji üzerinde durulmaktadır (34).

**11-** NO'nun ağrı hissinde anahtar transmitterlerden biri olarak rol oynadığı düşünülmektedir (35). Görüldüğü gibi diğer organ ve dokularda çok geniş farmakolojik spektrumu olan NO'yu bu yazımızda daha çok kardiyovasküler etkinlikleri yönünden irdelemek istiyoruz.

### Normal vasküler endotel ve NO

Daha önceden de belirtildiği gibi sağlam vasküler endotel birçok vazodilatör, vazokonstriktör, anti-koagülan ve prokoagülan maddeleri sentez ve metabolize eden parakrin bir organdır (1,11,13,15). En önemli vazodilatörleri NO (EDRF) ve prostasiklin teşkil etmektedir (13,36). NO endotel hücrelerinde mekanik güçlerin ve reseptör düzeyinde etkili otokoid maddelerin NO sentezi uyarması ve bu suretle esansiyel amino asit olan L-arginin'den L-sitrulin oluşması ile açığa çıkmaktadır (9-11,13). Oksijen serbest radikalleri bu otokoid maddeyi hızla yıkabilmektedirler (37).

Endotelde sentezlenen NO vasküler düz kas hücrelerine ve lümeneye yayılır. NO vasküler düz kas hücrelerinde guanilat siklazı uyararak, siklik guanosin monofosfat (cGMP) oluşumunu sağlar ki, bu da vasküler düz kas hücrelerinin relaksasyonu ile sonuçlanır (5,11,15,16). Endotel hücrelerinden NO salınımı bazal olarak devam ettiği gibi, shear stress (akım kuvveti), kan basıncı, damar gerilimindeki değişimler ve vazokonstriktör uyarılı çeşitli ajanlara karşı da

oluşmakta ve özellikle endoteli sağlam koroner arterlerde bu faktörlere karşı koruyucu bir denge mekanizması olarak gösterilmektedir (1,13). Prostaglandin (I<sub>2</sub>) ise endotelin trombin, bradikinin, histamin, HDL, ADP, ATP, kalsium ionofor A23187, trombosit türevli büyüme faktörü, hipoksi ve hemodinamik streslerle olan uyarılara karşı aradonik asitten salgıladığı vazodilatör bir maddedir (36). Prostaglandinin intrasellüler etki mekanizması NO'nun teki mekanizmasına göre farklı olarak siklik adenosin monofosfat üzerinden olmakta ve NO ile aditif etki gösterebilmektedir (36). NO ve prostasiklin özellik ve farklılıkları tablo 1'de gösterilmiştir. Gerek prostasiklin gerek NO trombositlerin adezyonu ve agregasyonunu önlemede sinerjik ve aditif etki gösterirler (13,38). NO trombositlerde eriyebilen guanilat siklazı uyararak cGMP oluşumunu sağlar, bu da 45/50kDA proteininin fosforilasyonunu artırır, hücre içi kalsium düzeyini azaltır, IIb/IIIa integrin ve P-selektin gibi trombosit adezyon moleküllerini etkisiz kılar (39/40). NO'nun küçük koroner arterlerde de trombositlere antiagregan etkisi gösterilmiştir (41). Trombosit agregasyonu düşünülen aksine bilakis endoteli sağlam damarlarda NO salınımını uyararak vazodilatasyon yapmaktadır (42). Bu etkiden agregat trombositlerden salgılanan adenin nükleotidleri sorumludur. Buna karşın endotel disfonksiyonu olan damarlarda agregat trombositler salgıladıkları tromboksan A<sub>2</sub> ve serotonin ile vazokonstrüksiyona sebep olurlar. Oysa ki sağlam endoteli damarlarda agregat trombositlerin NO salgılamasını uyarıcıları ve vazodilatasyon yapmaları yanında NO'nun da anti-agregan rolü ile bir denge ortamı oluşmaktadır. Endotel disfonksiyonunda ise bu denge ortamı kaybolmuştur (42).

NO ve prostasiklin endoteli sağlam damar duvarında aynı zamanda lökosit adezyonunu engellemektedirler (13). Beri taraftan özellikle polimorf nüveliler olmak üzere lökositler NO benzeri bir madde salgılayarak vasküler relaksasyonu sağlarlar (43). Trombosit aktive edici faktör, endotoksin, sitokin gibi birçok enflamasyon medyatörleri adezyon moleküllerinin (ELAM, ICAM, VCAM) aracılığı ile endotele lökosit kemotaksisini ve lökositlerin aktivasyonunu sağlarlar (44,45). Aktive lökositler ise proteolitik enzimleri salgılar ve bunun yanı sıra oksijen molekülünü süperoksit anyon haline dönüştürerek takiben hidrojen peroksit, hidroksil ve birçok toksik maddenin

oluşmasına zemin hazırlarlar (46). Bu toksik maddeler özellikle kalbin reperfüzyon hasarında (injury) büyük önem taşırlar (46). Ortamda bol miktarda oksijen serbest radikalının bulunması damar düz kas hücrelerini  $\alpha$  agonistlere hassas kılmakta, NO'yu inaktive ederek vazodilatasyonu azaltmaktadır (47). Ayrıca proteolitik enzimler (özellikle elastaz) iskeminin verdiği hasara ilave olarak miyokarda direkt olarak da zarar vermektedirler (48).

### İskemik kalp hastalığında vasküler endotel ve NO

İskemik kalp hastalığının fizyopatolojisinde en önemli etmenlerden biri endotel hasarından kaynaklanan vazodilatatör fonksiyonun bozulmasıdır. Bununla birlikte vazospazm, hiperlipidemi, monosit ve trombositlerin kümelenmeleri, bunların salgıladıkları çeşitli faktörlerle damar düz kas hücrelerinin göçü ve proliferasyonu da aterosklerozun önemli mihenk taşlarını teşkil etmektedir (13,49). Kararlı angina pektorisinde koroner arter ve arteriollerin genişleme fonksiyonu bozulmuştur. Bu da egzersiz ve emosyonel stres sırasında artan koroner akım ihtiyacının azalan koroner akım rezervi nedeni ile karşılanamamasına, dolayısı ile angina pektorisine neden olur (48). Hiperlipidemi ve hipertansiyon tedavisinin bozulan endotelde vazodilatatör fonksiyonu iyileştirdiğine dair çalışmalar mevcuttur (50,51). Asetilkolin, serotonin gibi nörohumoral maddeler, trombositler, artan kan akımı endoteli sağlam damarda vazodilatasyona sebep olurken, endotel disfonksiyonu olan damarda vazokonstrüksiyon yapar (13,52). Aynı şekilde soğuk basınç testi, mental stres normal koroner arterlerde vazodilatasyon yapmaktadır (53,54). Oysaki nitrogliserin uygulaması endotel fonksiyonu gerek sağlam gerekse bozuk koroner damarlarda vazodilatasyon yapmaktadır (55). Bütün bu uyarıcı faktörlere endoteli sağlam olan damarlarda vazodilatatör, endotel disfonksiyonu olan damarlarda ise vazokonstrüktör cevabın nedeni NO salınımı ile ilgilidir (13). Nitekim NO prekürsörü olan L-argininin aterosklerotik koroner damarlara infüzyonu ile bunlarda asetilkoline karşı vazodilatatör cevap görülmüştür (56). Kalp transplantasyonundan sonra oluşabilen rejeksiyonun erken döneminde, damarlarda aterosklerozun morfolojik görünümü oluşmadan gelişen endotel disfonksiyonunda asetilkoline vazokonstrüktör yanıt alınmaktadır (57). Temel fizyopatoloji NO üzerine kurul-

makla beraber, burada NO sentez, salınım veya inhibisyonun hangisinin etkili olduğu merak konusudur. Araştırmalar aterosklerotik endotelin azalan, normal veya aşırı miktarda NO salgıladığını, ancak NO aktivitesinin ortamdaki aşırı miktardaki süperoksit radikalleri tarafından azaltıldığını göstermektedir (58). Tablo 2'de NO sentezinin azaldığı durumlar gösterilmektedir. Aterosklerozun erken fazlarında NO salınımında  $G_i$  proteinine bağlı reseptör yolunun bozulduğu ve bunun sonucunda asetilkolin, serotonin ve aggrege trombositlerin vazodilatatör fonksiyonlarının bozulduğu düşünülmektedir (59). Aterosklerozun devam etmesi ile reseptörden bağımsız kalsium ionofor A23187 gibi uyarıların da etkisizleştiği vasayımı halen araştırılmaktadır (60). Bu arada L-arginin yararlılığı, hücre içine alınımının bozulması, NO sentezinin azalması, aterosklerotik damar düz kas hücrelerinin NO'ya cevabının azalması, ve NO yıkımının artması da halen düşünülen varsayımlar arasındadır (13,56,59).

### Endotel disfonksiyonu, vazospazm ve NO

Daralan koroner arterlerde, endotel disfonksiyonu oluşan vazospazm ile darlığı daha da arttırmaktadır. Vazospazm endotele bağımlı ve endotelden bağımsız olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (13). Shimokawa ve ark. (61,62) koroner damarlarına balon anjioplastisi yaptıkları domuzları takiben lipidden zengin diyetle beslenmişler ve bu şekilde yarattıkları hasarlı endotelli damarlarda histamin ve serotonin tatbiki ile tekrarlanabilen vazospazm saptamışlardır. Bu yapay endotel disfonksiyonunda asetilkolin, serotonin ve aggrege trombositlerin uyardığı endotele bağımlı vazodilatasyon bozulmuş, endotelden bağımsız vazodila-

Tablo 1: NO ve prostasiklin özellik ve farklılıkları

Özellik	NO	Prostasiklin
Kaynak	L-arginin	Araşidonik asit
Enzim	NO sentaz	Siklooksijenaz
Hücre içi mekanizma	$\uparrow$ cGMP	$\uparrow$ cAMP
Yarı ömür (san)	$\approx$ 6	$\approx$ 30
İnhibitör	Oksihemoglobin, metilen mavisi	Aspirin, non steroid antiinflamatuvarlar
Salınımını uyarımlar	Asetilkolin, Ca ionofor A23187, tromboksan A, serotonin, trombin, duvar stresi	Asetil kolin, Ca ionofor A23187, trombin, duvar stresi, hipoksi
Katabolizma	Süperoksit radikalleri	Hidroliz

Tablo 2: EDRF-NO sentezinin azaldığı durumlar

Koroner risk faktörleri
Sigara
Diabetes mellitus
Hipertansiyon
Hiperlipidemi
Koroner ateroskleroz
Hipoksi
İskemik kalp hastalığı
Kararlı angina pectoris
Kararsız angina pectoris
Akut miyokard infarktüsü
Koroner tıkanma ve reperfüzyon
Konjestif kalp yetersizliği

tasyon ise değişmemiştir (62). Gordon ve ark. (63) belirli bir egzersiz protokolü sırasında koroner anjiyografilerini yaptıkları ve koroner arterlerinde %50'den fazla lezyon saptanan hastaların lezyonlu koroner arterlerinde egzersiz sırasında vazokonstriksiyon görmüşler, asetilkolin infüzyonu ile de aynı yanıtı saptamışlardır. Bu şekilde kararlı veya kararsız angina pectoriste aktif vazokonstriktif komponentin bulunduğu, ve bunun da daha çok endotele bağlı vazodilatasyon kusuru olduğu kanaati gelmiştir. Ayrıca bu sırada önemli miktarda endotelin salgılanmasının da vazokonstriktör komponentte etkili olduğu düşünülmektedir (64).

### Hipoksi ve NO

Hipoksinin koroner arterlerde vazokonstriksiyon yaptığı öteden beri bilinmektedir. Ancak bunun NO ile ilişkisi son zamanlarda anlaşılmıştır. Yapılan çalışmalarla endoteli alınmış arter segmentlerinde ve NO inhibitörleri ile tedavi edilmiş endoteli sağlam arterlerde hipoksinin vazokonstriksiyon yapmadığı saptanmıştır (65,66). Bu durumda hipoksinin vazokonstriktör etkisinin vazokonstriktör bir maddenin salınımından çok bazal NO sekresyonunun inhibisyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir.

### Koroner arter reperfüzyonu ve NO

Total veya subtotal tıkanan koroner arterlerde reperfüzyon sonrası NO sentezinin anlamlı olarak azaldığı ilk kez Ku ve ark. (67) tarafından gösterilmiştir. Asetilkolin, trombin, ADP, agregre trombositler gibi normalde vazodilatasyon yapan maddeler bu arterlerde vazokonstriksiyona neden olurlar (67,68). Ayrıca arterlerin tromboksan A<sub>2</sub> gibi vazokonstriktör

maddelere yanıtları daha artmıştır (69). Trombolitik tedavi sonrası reperfüze koroner arterlerde reoklüzyonun gelişmesinde bu mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır. Özellikle trombüsten gelişen trombin oluşumu ve trombosit agregasyonunun burada tetikleyici mekanizma olarak rol oynadığı düşünülmektedir (13). Bu arada reoklüzyon mekanizmasının yalnızca NO sentezinin azalması ile ilgili olmayıp daha çok reperfüze bölgede oluşan oksijen serbest radikallerinin NO'yu inhibe etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Mehta ve ark. (68) erken reperfüzyon döneminde oksijen serbest radikallerini temizleyici süperoksit dismutaz verilmesinin NO inhibisyonuna bağlı vazokonstriksiyonu engellediğini saptamışlardır. Diğer bir görüş te reperfüzyon sonrası nitrat veya NO vericilerinin reperfüzyon hasarına neden olan oksijen serbest radikallerini yakalayarak ve nötrofil yığılmasını azaltarak bunların yaptığı reperfüzyon hasarını azalttıklarıdır (70). Bütün bu görüşlerin tersine NO'un reperfüzyon hasarını arttırdığını savunanlar da bulunmaktadır (71). Burada NO'un reperfüzyon sonrası erken reaktif hiperemi döneminde veya sonra nötrofillerle indüklenen NO sentaz aktivitesinin arttığı dönemde ortamda aşırı bulunması sorumludur (11,71,73). Bu sırada peroksinitrit gibi NO türevli zararlı serbest radikaller ve hücre canlılığından sorumlu respiratuvar mitokondrial demir-sülfür içeren enzimlerin reperfüzyonu olan tavşanlarda infarkt sahasını azalttığı gösterilmiştir (70). Burada sorumlu mekanizma kardiyoprotektif özellikleri olan adenosin salınımının artması olarak gösterilmektedir. Adenosinin koruyucu etkisine bağlı bu görüş iskemik önkoşullandırma (ischemic preconditioning) ile NO sentez inhibisyonu dışında benzerlikler göstermektedir.

### Hipertansiyon ve NO

Yapılan birçok farmakolojik çalışmalar kan basıncı yüksekliğinin NO salınımını arttırdığı, düşüklüğünün ise NO salınımını azalttığı yönündedir (1,76). Endotel hücrelerinden NO salınımı yalnızca akım basıncına (shear stress) değil aynı zamanda kan basıncı ve damar pulsatil gerilimi gibi mekanik komponentlere de bağlıdır (1). Ancak hala merak edilen husus acaba hipertansiyonun mu NO salınımının azalmasından kaynaklandığı; yoksa hipertansif damarların endatellerinde mi NO salınımının az olduğudur. NO

inhibitörlerinin tatbik edildikleri izole arterlerin vazokonstrüksiyon yaptıkları görülmektedir. Bu da damar sisteminde vazodilatatör tonusu sağlayan daimi bir NO salınımı olduğunu göstermektedir (77,79). Bu arada NO'nun aynı zamanda damar düz kas proliferasyonu ve trombosit fonksiyonları üzerindeki inhibitör rolü hipertansiyon fizyopatolojisinde etkindir (78,79). Kobay çalışmalarında spontan hipertansif sıçanlarda (SHR) NO sentaz aktivitesinin normotensif Wistar-Kyoto sıçanlarına (WKR) göre daha fazla arttığı saptanmıştır (80). SHR'lerde artan NO salınımının miyokardiyal kontraktibilitiyi düşüren ve vazodilatasyonu sağlayan bir kompensasyon mekanizması olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda NO'nun kas hücreleri büyümesi ve migrasyonuna inhibitör etkisi hipertansiyonda oluşan kardiyak hipertrofi, fibrozis ve yetersizliği engelleyici bir mekanizma olarak gözükmektedir (81,82). SHR'lerde NO salınımı artmasına rağmen damar düz kas cGMP seviyesi yeterli olarak artmamaktadır. O zaman da NO'nun hücre içi mesajı yerine getiremediği düşünülmektedir (1). Hipertrofik ve fibrotik intima tabakasının NO geçirgenliğini azaltan mekanik bir bariyer olduğu ve NO'nun çevresinde daha fazla oksidatif strese maruz kaldığı ileri sürülen düşünceler arasındadır (83,84). Tshudi ve ark'ları (1) yaptıkları bir çalışmada süperoksit dismutaz verilen SHR'lerde NO etkinliğinin daha fazla olduğunu saptamışlardır. Tuza bağımlı hipertansif sıçanlarda ise SHR'lerden farklı olarak NO sentezi azalmıştır (85). İnsanlarda ise hipertansiyonda bazal NO salınımı azalmaktadır (86). NO inhibitörü olan L-NMMA verildiğinde bunun hipertansiflerdeki vazokonstrüktör yanıtı hipertansif olmayanlara kıyasla daha azdır (86). Çalışmaların çoğunda primer ve sekonder hipertansiyonda asetilkolinin endotele bağımlı vazodilatatör etkisi azalmış bulunmuştur (87). Ayrıca endotel disfonksiyonu ile vazokonstrüktör prostoglandin türevli maddelere bozulmuş yanıtın da hipertansiyon fizyopatolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir (87).

NO'nun böbrek fonksiyonunda önemli rolü bulunmaktadır. Kan basıncı ve endotele bağımlı vazodilatasyon üzerinde etkisi olmayacak kadar düşük doz NO inhibitörleri böbrek kan dolaşımını, tuz ve Na atılımını azaltmaktadır (88). NO salınımindaki ufak değişikliklerle özellikle Na tutulumunun ve ekstraselüler sıvı artışının belirgin olduğu hipertansiyon çeşitleri bildirilmiştir (88). Son zamanlarda yapılan

araştırmalarda da böbrek yetersizliğinde vücutta NO sentezi inhibitörlerinin (asimetrik dimetil arginin) biriktiği tespit edilmiştir (89).

NO'nun pulmoner arter basıncının regülasyonunda da önemli rolü bulunmaktadır (1,2,13,15). Canlılarda ekspirasyon havasında NO bulunmaktadır (90). Fizyolojik şartlarda pulmoner dolaşımda salınan NO burada hipoksinin yaratacağı vazokonstrüksiyona doğal inhibitör denge unsurunu oluşturmaktadır (91). Ekspirasyon havasında NO oranı düşük olan pulmoner hipertansiyonlu hayvanlara L-arginin verilmesi ile olumlu neticeler alındığı görülmüştür (2). İdiopatik, konjenital kalp hastalıkları ve yeni doğanda oluşan pulmoner hipertansiyonlarda ve pnömöni tedavilerinde NO kullanımının rutine girmesi için çalışmalar yapılmaktadır (1,2).

#### NO ve organik nitritler arasındaki benzerlikler

Dinerman ve ark (92) 1991'de nitrogliserin uygulamasının endoteli alınmış kobay torasik aortunda endoteli sağlam torasik aorta kıyasla daha belirgin relaksasyon gösterdiğini saptamışlardır. Yine aynı araştırmacılar endogen EDRF'nin L-NMMA ile bloke edildiği hallerde nitrogliserin uygulamasının daha fazla vazodilatasyon yaptığını göstermişlerdir. Bu çalışmalar organik nitritlerin NO'ya dönüşerek, benzer şekilde etki ettiğini göstermektedir. Yine 1991'de Moncada ve ark. (93) EDRF'nin bloke edilmesi ile guanilat siklaz reseptörlerinde duyarlılığın niceliksel ve niteliksel olarak arttığı (upregulation) ve bu şekilde ekzojen verilen organik nitritlere hassasiyetin arttığını ileri sürmüşlerdir. Organik nitratlar 100 yılı aşkın bir süredir miyokard iskemisinde kullanılmaktadırlar (5). Bu ajanların terapötik etkinlikleri damar düz kasında NO ve S-nitrosotiollere dönüşmeleri ile görülmektedir (94). Aterosklerotik koroner damarlarda endojen NO aktivitesi azaldığından ekzojen verilen organik nitratlara aşırı hassasiyet mevcuttur (13,93). Organik nitratların diğer etkileri de trombositler üzerinde antiadeziv ve antiagregan rol oynamaları ve kanama zamanını uzatmalarıdır (95,96). Burada organik nitratların NO'ya dönüşümleri sorumludur. Organik nitratların trombositler içinde NO'ya dönüşüp etkili olabilmeleri için S-nitrosotiollere gereksinim vardır (95). Aynı zamanda fizyolojik koşullarda da NO redükte tiollerin S-nitrolisasyonunu sağlayarak trombosit inhibisyonunda önemli bir rol

oyunmaktadır (95). Antitrombosit etkileri asetil salisilik asitten farklı bir mekanizma gösteren nitratlar asetil salisilik asitle aditif etki gösterirler (97). Sonuç olarak organik nitratların NO'ya dönüşüp özellikle endotel disfonksiyonu olan ve endojen NO işlevi bozuk olan damarlarda etkili olduğunu söyleyebiliriz. Ne var ki organik nitratların çok küçük damarlarda (çap <100µm) etkileri yoktur (98). Bu da küçük damarlarda organik nitratların nitrit oksite metabolize olamaması ile açıklanmaktadır. Bu damarlarda yalnız endojen NO salınımı olmaktadır (98).

### NO ve tedavideki yeri

Kardiyolojinin en önemli transmitterlerinden biri olan NO terapötik olarak NO vericileri ve NO sentaz inhibitörleri şeklinde kullanılmaktadır (Tablo 3). NO vericileri selektif ve non-selektif olmak üzere ikiye ayrılırlar (39).

NO gazının in vitro kimyasal etkisi ancak saniyelerle ölçülecek kadar kısa, biyolojik yarı ömrü ise 1 ile 4 dakika arasındadır. NO inhalasyonu yapılan deney hayvanlarında trombosit fonksiyon bozukluğunun daha uzun (30 dakika) sürdüğü saptanmıştır (99). NO vericilerinin halen yaygın olarak kullanılan en önemli temsilcileri organik nitratlardır. Organik nitratlar (Nitroglicerine, isosorbid-2, isosorbid-5 mononitrat, isosorbid dinitrat, eritrit tetranitrat, pentaeritrit tetranitrat vs.) NO serbestleştirmeden önce metabolik değişime gereksinim duyan ilaçları içermektedirler (39). Organik nitratlar NO serbestleştirmek için in vitro çalışmalarda tiol kofaktöre gereksinim göstermektedirler; in vivo çalışmalarda ise tiol etkisi altında NO serbestleşmesi daha hızlı olmaktadır. Na-nitroprussid, molsidomin, ve SIN-1 ise NO vericileri içinde NO serbestleşmesi için metabolik etkinleşmeye gereksinim duymayan birleşiklerdir (39,100). Na nitroprussid hipertansiyon krizi ve iskemik kalp hastalıklarında kullanılan bir ajandır, in vitro yapılan

çalışmalarda bir miktar antitrombosit etkisi olduğu gösterilmiştir (101). Molsidomin ve aktif metaboliti SIN-1'in yapılan çalışmalarda deneysel tromboz ve trombosit agregasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (102). Ancak bunların NO'un yanı sıra O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve ONOO<sup>-</sup> gibi birleşikleri de oluşturdukları ve bu birleşiklerin de trombosit agregasyonuna neden olarak NO'un antitrombosit etkisini engelleyebileceği düşünülmektedir (39). Organik nitrat yapılarına sistein eklenerek hücresel tiol ile birleştirilmeleri bunlara in vivo ve in vitro çalışmalarda trombosit ve lökosit işlev inhibisyonunda etkinlik kazandırmıştır (103). En önemli hücresel tiol olan glutatyonun S-nitrozilasyonu trombosit seçici NO vericisi olan S-nitrozoglutatyon (GSNO) elde edilmiştir (39). Sıçan deneylerinde kan basıncı üzerinde çok az değişim yapacak dozda GSNO'nu trombosit agregasyonunu inhibe ettiğini gösterilmiştir (104). GSNO'un anjioplasti hastalarında da trombosit etkinleşmesini de önemli oranda inhibe ettiği gösterilmiştir (39) Tüm bu gelişmeler doğrultusunda özellikle trombositler ve lökositlere etkili seçici NO vericileri üzerinde çalışmalar yoğunluk kazanmıştır.

Sonuç olarak halen kullanılan farmakolojik ajanların kardiyolojinin en önemli transmitterlerden biri olan NO'ya kısmen erişebildiklerini görmekteyiz. Örneğin nitratların endojen NO salınımının olduğu çok küçük damarlarda etkileri yoktur, oysa ki kardiyovasküler alanda pekçok hastalığın fizyopatolojisinde bu rezistan arteriollerdeki NO işlev bozukluğunun rolü vardır. Bu örnekler yukarıda kısmen anlatılan temel fizyopatolojilerle çoğaltılabilir. Sürdürülmekte olan birçok çalışma ve kaydedilen ilerlemelerle kardiyoloji ve çok çeşitli sistemlerde temel işlevi olabilecek NO vericileri ve NO sentaz inhibitörlerinin kullanım sahaları her geçen gün daha da artacaktır.

### KAYNAKLAR

1. Nava E, Lüscher T: Endothelium-derived vasoactive factors in hypertension: nitric oxide and endothelin. J Hypertens 1995; S39-S48
2. Loscalzo J: Nitric oxide and vascular disease. N Engl J Med 1995; 333: 251-53
3. Gültekin N, Yaldıran A, Küçükoğlu S, Mutlu H: Endotelin Sistemi. Medikal Network. Kardiyoloji 1994;4: 29-36
4. Ignarro LJ, Byrns RE, Wood KS: Biochemical and pharmacological properties of endothelium-derived relaxing factor and its similarity to nitric oxide radical. RD

Tablo 3: NO ve tedavideki yeri

<b>A) NO vericileri</b> 1 Nitrik oksit gazı, SNAP (S-nitroso-N asetil penisil amin) 2. Organik nitratlar 3. Na-nitroprussid, molsidomin ve SIN-1
<b>B) Trombosit selektif NO vericileri</b> GTN, GSNO (S-nitrosoglutatyon) (Selektif olarak trombosit agregasyonunu inhibe ederler)
<b>C) NO sentaz inhibitörleri</b> L-NMMA Aminoguanidin

Vanhoutte PM (ed): Vasodilatation: vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves and endothelium. New York, Raven Press, 1988. p.427-35

5. Lüscher TF: NO-the link between EDRF and nitrates. Schwarz Pharma Scientific Forum 1993;4:25

6. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR: An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. Nature 1976; 263: 663-65

7. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetyl-choline. Nature 1980; 28: 373-76

8. Palmer RM, Ferige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 1987; 327: 524-26

9. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature 1988; 33:664-6

10. Moncada S, et al: Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. Pharmacol Rev 1991; 43:109-42

11. Moncada S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med 1993; 329:2002-2012

12. Buga GM, Gold ME, Fukuto JM, Ignara L: Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. Hypertension 1991; 17: 187-93

13. Mehta JL, Moncada S, Pearson JD, Mann GE: Identification of inhibitors of nitric oxide synthase that do not interact with the endothelial cell L-arginine transporter. Br J Pharmacol 1992; 105: 768-70

15. Pötter S: New perspectives for nitric oxide. Schwarz Pharma Scientific Forum 1993; 5:5-29

16. Kawai C: Pathogenesis of acute myocardial infarction. Circulation 1994; 90:1033-43

17. Nava E, Palmer RMJ, Moncada S: The role of nitric oxide in endotoxic shock: Effects of N monomethyl-L-arginine. J Cardiovasc Pharmacol 1992; 20: 132-34

18. Wright CE, Rees DDK, Moncada S: Protective and pathological roles of nitric oxide in endotoxin shock. Cardiovas Res 1992;26:48-57

19. Petros A, Bennett, D, Vallance P: Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. Lancet 1991; 338: 1557-8

20. Corbett JA, Tilton RG, Chang K: Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. Diabetes 1992; 41:552-6

21. Borland CDR, Higginbotham TW: A simultaneous single breath measurement of pulmonary diffusing capacity of nitric oxide and carbon monoxide. Eur Respir J 1989; 2: 56-63

22. Kelm M, Feelich M, Grube R, Motz W, Stauer BE: Metabolism of endothelial-derived nitric oxide in human blood. RD Moncada S, Marletta MA, Hibbs JB et al. The biology of nitric oxide. Vol 1, London, Portland Press 1992. p. 319-22

23. Ochoa JB, Udekwu OA, Billiar TR et al: Nitrogen

oxide levels in patients after trauma and during sepsis. Ann Surg 1991; 214:621-6

24. Stark ME, Szurzewski JH: Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function disease. Gastroenterology 1992; 103:1928-49

25. Kolb H, Kolb-Bachofen V: Nitric oxide a pathogenetic factor in autoimmunity. Immunol Tod 1992; 13: 157-60

26. Keller A, Bassetti S, Keist R, Mulsch A, Klauser S: Induction of nitric oxide synthase is a necessary precondition for expression of tumor necrosis factor-independent tumoricidal activity by activated macrophages. Biochem Biophys Res Commun 1992; 184: 1364-71

27. Summersgill GT, Powell LA, Buster BL, Miller RD, Ramirez JA: Killing of legionella pneumophila by in gamma-interferon-activated macrophages. J Leucoc Biol 1992; 52:625-9

28. Park J, Rikihisa Y: L-arginine-dependent killing of intracellular ehrlichia risticii by macrophages treated with gamma interferon. Infect Immun 1992; 60: 3725-30

29. Rockett KA, Awburn MM, Aggarwal BB, Cowden WB, Clark IA: In vivo induction of nitrite and nitrate by tumor necrosis factor, lymphotoxin and interleukin-1: possible roles in malaria. Infect Immun 1992; 60: 52: 625-9

30. Hattori Y, Kawazaki H, Abe K, Kanno M: Superoxide dismutase recovers altered endothelium-dependent relaxation in diabetic rat aorta. Am J Physiol 1991; 261: 1086-94

31. Langrehr JM, Muller AR, Begonia HA et al: Detection of nitric oxide by electron paramagnetic resonance spectroscopy during rejection and graft-versus-host disease after small-bowel transplantation in the rat. Surgery 1992; 112: 395-402

32. Izumi Y, Ckuffird DB, Zorumski CF: Inhibition of long term potentiation by NMDA-mediated nitric oxide release. Science 1992; 257: 1273-6

33. Synder SH: Nitric oxide and neurons. Curr Opin Neurobiol 1992; 2:223-7

34. Choi DW: Bench to bedside: the glutamate connection. Science 1992;241-3

35. Meller ST, Lewis SJ, Bates JN: Is there a role for an endothelium-derived relaxing factor in nociception? Brain Res 1990; 531: 342-5

36. Dinerman JL, Mehta JL: Endothelial, platelet and leukocyte interactions in ischemic heart disease: insights into potential mechanisms and their clinical relevance. J Am Coll Cardiol 1990; 16:207-22

37. Gryglewski RJ, Palmer RMJ, Moncada S: Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. Nature 1986; 320: 454-6

38. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S: Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. Br J Pharmacol 1987; 92:181-7

39. Radomski MW: Platelet regulation-another dimension for NO and nitrates. Schwarz Pharma Scientific Forum 1994; 7:5-25

40. Walter U: Physiological role of cGMP and cGMP-dependent protein kinase in the cardiovascular system. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1989; 113:41-88
41. Yao SK, Ober JC, Krishnaswami A et al: Endogenous nitric oxide protects against platelet aggregation and cyclic variations in stenosed and endothelium injured arteries. *Circulation* 1992; 86: 1302-9
42. Houston DS, Shepherd JT, Vanhoutte PM: Adenine nucleotides, serotonin, and endothelium-dependent relaxations to platelets. *Am J Physiol* 1985; 248:389-95
43. Mehta JL, Lawson DL, Nichols WW, Mehta P: Modulation of vascular tone by neutrophils: dependence on endothelial integrity. *Am J Physiol* 1989;257:1315-20
44. Harlan JM, Killen PD, Senecal FM et al: The role of neutrophil membrane glycoprotein GP-150 in neutrophil adherence to endothelium in vitro. *Blood* 1985; 66: 167-78
45. Babior BM: Functions of neutrophils and mononuclear phagocytes. RD Wyngaarden JB, Smith LH-Bennett JC (eds) Cecil Textbook of Medicine. Philadelphia, W.B. Saunders Company 1992.p. 898-99
46. Mehta JL, Nichols WW, Mehta P: Neutrophils as potential participants in acute myocardial ischemia: relevance to reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 1988; 11:1309-16
47. Lawson DL, Mehta JL, Nichols WW, Mehta P, Donnelly WH: Superoxide radical-mediated endothelial injury and vasoconstriction of rat thoracic aortic rings. *J Lab Clin Med* 1990; 115: 541-8
48. Mehta JL, Nichols WW, Nicolini FA, Hendricks FA, Donnelly WH, Saldeen TGP: Neutrophil elastase inhibitor IC1200,880 protects against attenuation of coronary flow reserve and myocardial dysfunction following temporary artery occlusion in dogs. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 947-56
49. Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: an update. *N Engl J Med* 1986; 314: 488-500
50. Mehta JL, Lopez LM, Chen LY, Cox G: Alterations in nitric oxide synthase activity, superoxide anion generation and platelet aggregation systemic hypertension and effect of celiprol. *Am J Cardiol* 1994; 74: 901-5
51. Harrison DG, Armstrong ML, Freiman PC, Heistad DD: Restoration of endothelium dependent relaxation by dietary treatment of atherosclerosis. *J Clin Invest* 1987; 80:1808-11
52. Bassenge E, Heusch G: Endothelial and neuro-humoral control of coronary blood flow in health and disease. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1990; 116: 77-165
53. Nabel EG, Selwyn AP, Ganz P: Paradoxical narrowing of atherosclerotic coronary arteries induced by increases in heart rate. *Circulation* 1990; 81: 850-9
54. Yeung AC, Vekshtein VI, Krantz DS: The effect of atherosclerosis on the vasomotor response of coronary arteries to mental stress. *N Engl J Med* 1986; 325: 1551-6
55. Ludmer PR, Selwyn AP, Shokk TL et al: Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315: 1046-51
56. Drexler H, Zeiher Am, Meinzer K, Just H: Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic patients by L-arginine. *Lancet* 1991; 338:1546-50
57. Fish RD, Nabel EG, Selwyn AP et al: Responses of coronary arteries of cardiac transplant patients to acetylcholine. *J Clin Invest* 1988; 81:21-31
58. Minor RL, Myers PR, Guerra R, Bates JN: Diet induced atherosclerosis increases the release of nitrogen oxides from rabbit aorta. *J Clin Invest* 1990; 86: 2109-16
59. Shimokawa H, Flavahan NA, Vanhoutte PM: Loss of endothelial pertussis toxin-sensitive G protein function in atherosclerotic porcine coronary arteries. *Circulation* 1991; 83: 652-60
60. Flavahan NA: Atherosclerosis or lipoprotein-induced endothelial dysfunction: potential mechanisms underlying reduction in EDRF/nitric oxide activity. *Circulation* 1992;1927-38
61. Shimokawa H, Tomoike H, Nabeyama S et al: Coronary artery spasm induced in miniature swine: angiographic evidence and relation to coronary atherosclerosis. *Am Heart J* 1985; 110: 300-10
62. Shimokawa H, Aarhus LL, Vanhoutte PM: Porcine coronary arteries with regenerated endothelium have a reduced endothelium-dependent responsiveness to aggregated platelets and serotonin. *Circ Res* 1987; 61: 256-70
63. Gordon JB, Ganz P, Nabel EG, et al: Atherosclerosis influences the vasomotor response of epicardial coronary arteries to exercise. *J Clin Invest* 1989; 83: 1946-52
64. Stewart DJ, Kubac G, Costello KB, Cernacek P: Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1991; 18:38-43
65. Yang BC, Nichols WW, Lawson DL, Mehta JL: Agonist-induced tension determines vascular reactivity during anoxia and reoxygenation. *Life Sci* 1992; 50:1805-12
66. Muramatsu M, Iwama Y, Shimizu K: Hypoxia-elicited contraction of aorta and coronary artery via removal of endothelium-derived nitric oxide. *Am J Physiol* 1992; 263: H1339-47
67. Ku DD: Coronary vascular reactivity after acute myocardial ischemia. *Science* 1982; 218:576-8
68. Mehta JL, Lawson DL, Nichols WW: Attenuated coronary relaxation after reperfusion: effects of superoxide dismutase and TxA2 inhibitor U63557A. *Am J Physiol* 1989; 257: H1240-6
69. Pearson PJ, Schaff HV, Vanhoutte PM: Acute impairment of endothelium-dependent relaxations to aggregated platelets following reperfusion injury in canine coronary arteries. *Circ Res* 1990; 67: 385-93
70. Pearson PJ, Lin PJ, Schaff HV: Global myocardial ischemia and reperfusion impair endothelium-dependent relaxations to aggregating platelets in the canine coronary artery. A possible cause of vasospasm after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 103:1147-54
71. Woolfson G, Vanlata CP, Neild GH, Yellon DM: Inhibition of nitric oxide synthesis reduces infarct size by an adenosine dependent mechanism. *Circulation* 1995; 91:1545-51

72. Kostic MM, Schrader J : Role of nitric oxide in reactive hyperemia of guinea pig heart. *Circ Res* 1992;70:208-12
73. Yamabe H, Okumura K, Ishizaka H, Tsuchiya T, Yasue H: Nitric oxide is a mediator of hypoxic coronary vasodilatation. *Circ Res* 1992;72:992-1001
74. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA: Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:1620-24
75. Geng Y, Hansonn GK, Holme E: Interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor synergize to induce nitric oxide production and inhibit mitochondrial respiration in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1992;71:1268-76
76. Zwieten PA, Safar M, Laurent S, Pfaffendorf M, Hendriks MG, Bruning TA: New insights into the role of endothelial dysfunction in hypertension. *J Hypertens* 1995;13:713-16
77. Vallance P, Collier J, Moncada S: Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arterial tone in man. *Lancet* 1989;ii:997-1000
78. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S: An L-arginine to nitric oxide pathway in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:5193-97
79. Dubey RK, Lüscher TF: Nitric oxide inhibits angiotensin II-induced migration of vascular smooth muscle cells (abstract). *Hypertension* 1993;22:412
80. Nava E, Noll G, Lüscher TF: Increased activity of constitutive nitric oxide synthase in cardiac endothelium in spontaneous hypertension. *Circulation* 1995;91:2310-13
81. Sessa WC, Pritchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH: Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase expression. *Circ Res* 1994;74:349-53
82. Anversa P, Peng LI, Malhotra A et al: Effects of hypertension and coronary contraction on cardiac function, morphology, and contractile proteins in rats. *Am J Physiol* 1993;265:713-25
83. Lindop GM: Textbook of Hypertension, London, Blackwell Scientific Publications, 1994. p.663-69
84. Nakazono K, Watanabe N, Matsuna K, Sasaki J, Sato T: Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? *Proc Nat Acad Sci USA* 1991; 88:10045-48
85. Lüscher TF, Raji L, Vanhoutte PM: Endothelium-dependent vascular responses in normotensive Dahl rats. *Hypertension* 1987;9:157-63
86. Calver A, Collier S, Moncada S, Vallance P: Effect of local intra-arterial N-monomethyl-L-arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. *J Hypertens* 1992; 10:1025-31
87. Taddie S, Virids A, Mattei P, Salvetti A: Vasodilatation to acetylcholine in primary and secondary forms of human hypertension. *Hypertension* 1993; 21: 929-33
88. Salazar FJ, Pinilla JM, Lopez F, Romeo JC, Quesada T: Renal effects of prolonged synthesis inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension* 1992;20:113-17
89. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier S, Moncada S: Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 329:572-75
90. Leone AM, Gustafsson SE, Francis PL, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S: Nitric oxide is present in exhaled breath in humans: direct GC-MS confirmation. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 201:883-87
91. Wiklund NP, Persson MG, Gustafsson LE, Moncada S, Hedqvist P: Modulatory role of endogenous nitric oxide in pulmonary circulation in vivo. *Eur J Pharmacol* 1990; 185:123-4
92. Dinerman JL, Dawson DL, Mehta JL: Interactions between nitroglycerin and endothelium in vascular smooth muscle relaxation. *Am J Physiol* 1991; 260: H698-701
93. Moncada S, Rees DD, Schulz R, Palmer RM: Development and mechanism of a specific supersensitivity to nitrovasodilators after inhibition of vascular nitric oxide synthesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:2166-70
94. Fung HL, Chung SJ, Baue JA, Chong S, Kowaluk EA: Biochemical mechanism of organic nitrate action. *Am J Cardiol* 1992; 70:4-10
95. Loscalzo J: Antiplatelet and antithrombotic effects of organic nitrates. *Am J Cardiol* 1992; 70:18-22
96. Folts JD, Stamler J, Loscalzo J: Intravenous nitroglycerin infusion inhibits cyclic blood flow responses caused by periodic platelet thrombus formation in coronary artery stenosis in dogs. *Circulation* 1991; 83: 2122-7
97. Moncada S, Vane JR: Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A<sub>2</sub> and prostacyclin. *Pharmacol Rev* 1979; 30: 293-331
98. Selke FW, Myers PR, Bates JN, Harrison DG: Influence of vessels size on sensitivity of porcine coronary microvessels to nitroglycerin. *Am J Physiol* 1990; 258:H515-20
99. Hogman M, Frostell G, Arnberg H, Hedenstierna GI: Bleeding time prolongation and NO inhalation. *Lancet* 1993; 341: 1664-5
100. Feelsh M, Noack EA: Corelation between nitric oxide formation during degradation of organic nitrates and activation of guanylate cyclase. *Eur J Pharmacol* 1987; 139:19-30
101. Hines , Barash PG: Infusion of sodium nitroprusside includes platelet dysfunction in vitro. *Anesthesiology* 1989; 71:805-6
102. Wantie JL, Weill D, Kadeva H, Maclouf J, Soria C: Modulation of platelet function by SIN-1 A. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 14: S111-14
103. Lefer DJ, Nakanishi K, Vinten-Johansen J: Endothelial and myocardial cell protection by a cysteine containing nitric oxide donor after myocardial ischemia and reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;22: S34-43
104. Radomski MW, Rees DD, Duta A, Moncada S: S-nitrosoglutathione inhibits platelet activation in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol* 1992; 107:745-49