

Rho Kinaz ve Kardiyovasküler Hastalıklar

Rho Kinase and Cardiovascular Diseases

A. Nihal SARI¹, Seyhan ŞAHAN FIRAT¹, Bahar TUNÇTAN¹

¹Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Mersin

Özet

Ateroskleroz, hipertansiyon gibi arteriyel hastalıklar, düz kas hücrelerinin çoğalması ve hipertrofisi ile belirlenir. Bu hastalıkların ortak özelliği, damar düz kas hücre gerimini ve büyümesini düzenleyen endotel tabakasındaki işlev bozukluğudur. Tümör nekroze edici faktör- α , interlökin-1 β gibi yangıya neden olan mediyatörler monosit kemotaktik peptit-1, damar hücre adezyon molekülü-1 ve hücrelerarası adezyon molekülü-1 gibi adezyon moleküllerinin up-regüle olarak monositlerin damar duvarında birikmesine ve adezyonuna-yapışmasına ayrıca damar düz kas hücre göçüne, çoğalmasına ve damar tıkanmasına yol açmaktadır. Küçük G proteini Rho'nun alt efektörü Rho kinaz'ın ROK α /ROCK II ve ROK β /ROCK I olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. ROCK, düz kas kasılması, aktin hücre iskeleti oluşumu, hücre yapışması ve hareketliliği, çoğalması, sitokinez ve genetik bilginin genden proteine aktarılması gibi kardiyovasküler hastalıkların patojenezinde rol oynayan çeşitli hücre işlevlerine aracılık etmektedir. Fasudil ve Y-27632 gibi seçici ROCK inhibitörleri ile yapılan klinik öncesi ve klinik çalışmalarda ROCK'nin kardiyovasküler sistem ile ilgili olarak ortaya çıkan koroner vazospazm, hipertansiyon, miyokart infarktüsü, inme ve kalp yetmezliği gibi çeşitli hastalıkların patojenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca, ROCK'nin uzun süre baskılanmasının kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yararlı etkileri gösterilmiştir. Bu derlemede, ROCK inhibitörlerinin çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisindeki rolü değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: ROCK I, ROCK II, Rho kinaz inhibitörleri, kardiyovasküler hastalıklar

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2010;3(2):1-7

Geliş Tarihi : 27.12.2010

Kabul Tarihi : 02.05.2011

Yazışma Adresi: Seyhan ŞAHAN FIRAT; Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Yenişehir Kampüsü, 33169, Mersin

Tel : 0-324-341 28 15/2613

Faks : 0-324-341 30 22

E-posta : seyhansahan06@gmail.com

Abstract

Arterial diseases such as arteriosclerosis and hypertension are characterized by proliferation and hypertrophy of smooth muscle cells. The common feature of these diseases is endothelial dysfunction, which regulates the growth and tone of vascular smooth muscle cells. Inflammatory mediators like tumor necrosis factor alfa, interleukin-1 β cause accumulation and adhesion of monocytes to the vessel wall by up-regulation of monocyte chemotactic peptide-1 and adhesion molecules such as vascular cell adhesion molecule-1, intercellular cell adhesion molecule-1, as well as migration, proliferation of vascular smooth muscle cells, and vessel obstruction. Rho kinase, sub-effector of small G protein Rho has two isoforms named as ROK α /ROCK II and ROK β /ROCK I. ROCK mediates various cellular functions such as smooth muscle contraction, actin cytoskeleton formation, cell adhesion and motility, proliferation, cytokinesis, and gene expression that play a role in pathogenesis of cardiovascular diseases. Preclinical and clinical studies with selective ROCK inhibitors, fasudil and Y-27632, have shown that ROCK has an important role in the pathogenesis of cardiovascular diseases such as coronary vasospasm, hypertension, pulmonary hypertension, angina, myocardial infarction, stroke and heart failure. Also, beneficial effects of prolonged inhibition of ROCK in cardiovascular diseases have been demonstrated. The role of ROCK inhibitors in the treatment of various cardiovascular diseases was evaluated in this review.

Key words: ROCK I, ROCK II, Rho kinase inhibitors, cardiovascular diseases

Giriş

Bir serin-treonin kinaz olan Rho kinaz, monomerik guanozin 5'-trifosfat (GTPaz)'ların Ras süperfamilyasının Rho alt familyasının üyesi olan küçük GTPaz Rho'nun bir alt efektörüdür. ROCK'nin ROCK α /ROCK II ve ROCK β /ROCK I olmak üzere iki izoformu vardır (1,2). ROCK, düz kas kasılması, aktin hücre iskeleti oluşumu, hücre yapışması ve hareketliliği, çoğalması, sitokinez ve genetik bilginin genden proteine aktarılması gibi kardiyovasküler hastalıkların patojenezinde rol oynayan çeşitli hücre işlevlerine aracılık etmektedir (3). ROCK'nin damar düz kas hücrelerinin kasılmasında önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Bu durum, ROCK inhibitörlerinin koroner ve serebral vazospazm, hipertansiyon ve pulmoner hipertansiyon ile miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı gibi damar düz kas hücresi aşırı kasılmasının neden olduğu kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yararlı olabileceklerini göstermektedir (2,4). Bu bağlamda, çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere ROCK inhibitörleri ile yapılan çalışmalar sürmektedir. ROCK inhibitörlerinden birisi olan fasudilin subaraknoit kanamanın ardından oluşan serebral vazospazmda kullanımı 1995 yılında Japonya'da onaylanmıştır (5).

Bu derlemede, ROCK inhibitörlerinin kardiyovasküler hastalıkların tedavisindeki rolü değerlendirilmiştir.

Küçük G Proteinleri

Küçük G proteinleri, moleküler ağırlıkları 20-40 kilodalton olan, guanozin 5'-trifosfat (*guanosine 5'-triphosphate*; GTP)'ye bağlı monomerik proteinlerdir (9). G proteinleri Rho, Ras, Rab, Sar1/Arf ve Ran ailelerinden oluşur. Rho ailesinin memelilerde en az 10 üyesi tanımlanmıştır. Bunlar arasında Rho izoformlarından Rho A, Rho B, Rho C, Rho D, Rho E, ve Rho G; Rac izoformlarından Rac1, Rac2, Rac3, Cdc42 ve TC10 bulunur. Rho izoformları arasında vücutta çeşitli hücrelerde varlığı gösterilen ve üzerinde çalışılan Rho A'dır (6,7).

Rho A, Rho B ve Rho C proteinlerinin efektör bölgelerinin amino asit dizilimleri aynıdır ve benzer hücresel işlevleri bulunmaktadır (6). Rho proteinleri, başlıca hücre iskeleti kontrolünden, stres liflerinin yapılanmasından, fibroblastların yapışmasından ve düz kas kasılmasında kalsiyuma duyarlılığının düzenlenmesinden sorumludur (8,9). Aynı zamanda, aktin hücre iskeleti oluşumu, hücre yapışması, hareketliliği, sitokinez ve genetik bilginin genden proteine aktarılması gibi birçok hücre işlevinde önemli rol oynarlar (10). Rho B ve Rho C daha az bilinmekle birlikte, Rho B'nin hücre büyümesini önlediği ve apoptozu indüklediği gösterilmiştir.

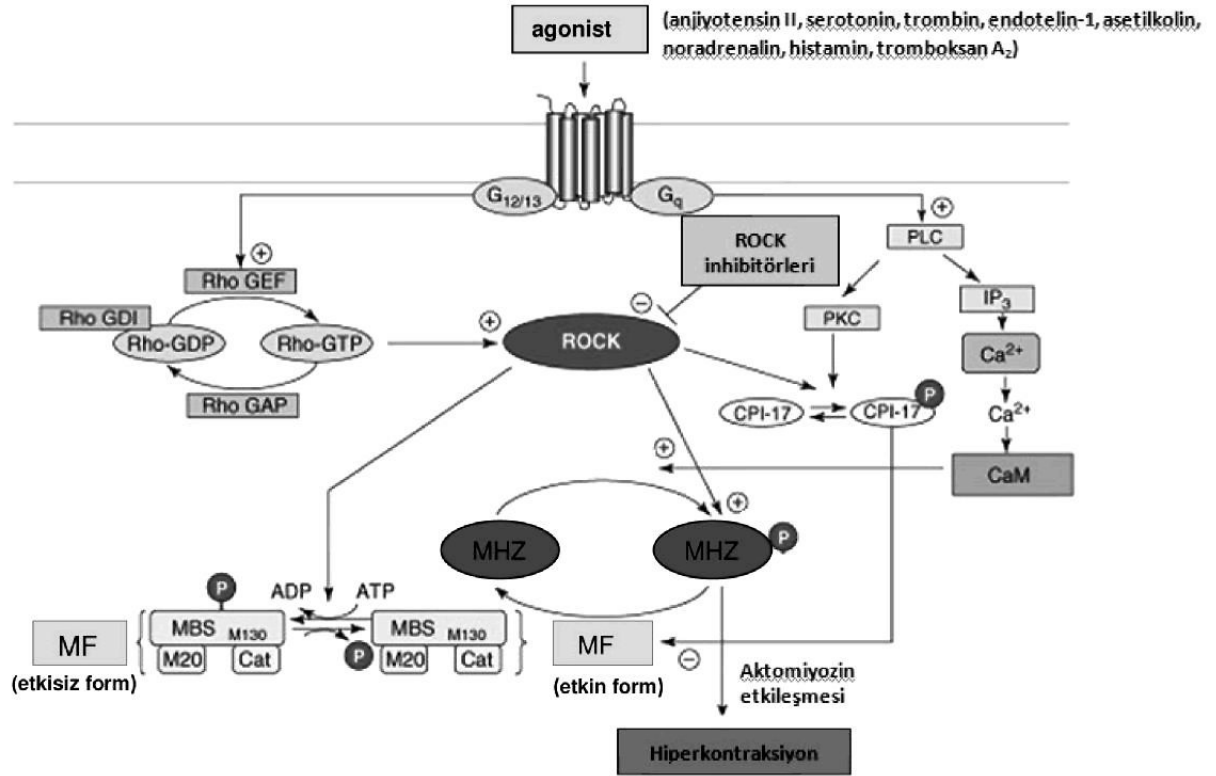
Çeşitli kanser hücrelerinde varlığı gösterilen Rho C'nin ise hücrelerin yayılmasında rolü olduğu bildirilmiştir (11-13). Rac ve Cdc42 ise aktin polimerizasyonunu düzenlemektedir (14).

Rho/Rho Kinaz Yolu

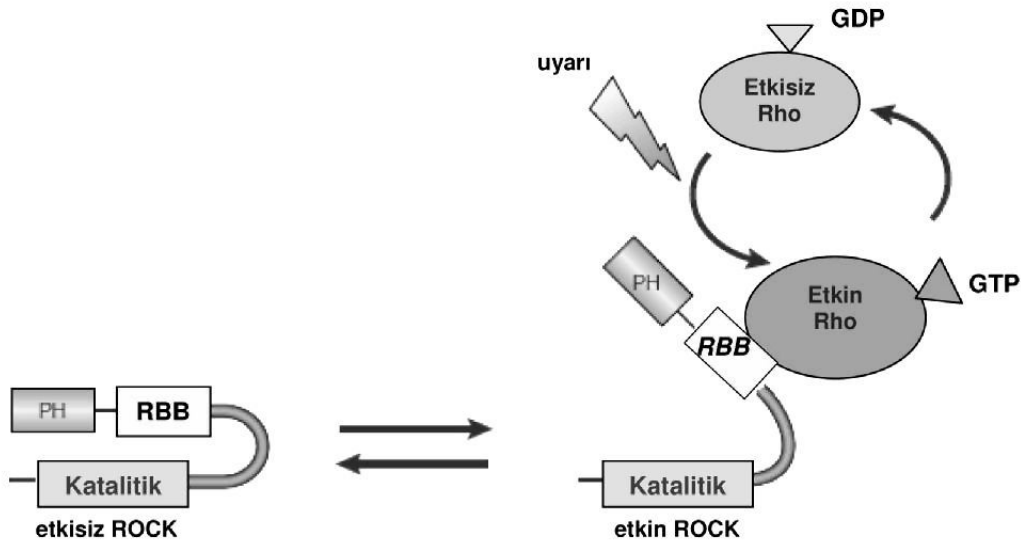
Sitoplazmik kalsiyum miktarındaki artış düz kaslarda kasılmayı tetikleyen temel mekanizmadır. Bununla birlikte, düz kaslarda agonistle indüklenen kasılma, büyük oranda hücre zarı potansiyelinden bağımsız mekanizmalar ile düzenlenmektedir (Şekil 1) (3). Serotonin ve fenilefrin gibi agonistler, fosfotidil inozitol yolunu etkinleştirerek sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salıverilmesinde artışa neden olurlar. Hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, kalsiyumun kalmoduline bağlanmasını artırır. Kalsiyum-kalmodulin kompleksi, miyozin hafif zincir (*myosine light chain*; MLC)'yi fosforile etmek üzere, miyozin hafif zincir kinaz (*myosine light chain kinase*; MLCK)'yi etkinleştirir. MLC'nin fosforilasyon derecesi, düz kaslarda kasılmanın büyüklüğünü belirleyen önemli bir etkidir. MLC fosforilasyonu düz kaslarda kasılmaya neden olurken, hücre içi kalsiyum miktarındaki azalmanın ardından gerçekleşen MLC defosforilasyonu gevşemeye neden olur (15).

Rho/ROCK yolu, MLC'nin fosforilasyon düzeyinin belirlenmesinde rol oynar ve bu düzenlemeyi esas olarak miyozin fosfataz (*myosine phosphatase*; MP)'yi baskılayarak yapar. Böylelikle düz kas kasılmasında agonistin neden olduğu kalsiyum duyarlılığındaki artışa katkıda bulunur. Kalsiyum belirteçleri kullanılarak hücre içi kalsiyum düzeyi ölçüldüğünde kalsiyum derişiminin, MLC fosforilasyonu ve düz kas kasılması ile her zaman birlikte olmadığı görülmüştür. GTP bağlayıcı protein olan Rho agonist aracılıklı kalsiyum duyarlılığında önemli bir rol oynamaktadır. Daha da önemlisi, belli bir kalsiyum derişiminde artmış kasılmaların, etkinleşmiş Rho ile MLC fosforilasyon oranındaki artıştan çok, defosforilasyon oranındaki azalmadan kaynaklandığı ileri sürülmüştür (6).

Rho proteinleri bu etkiyi alt efektörleri olan ROCK aracılığı ile oluşturmaktadır (16). ROCK için özgül inhibitörler kullanılarak yapılan çalışmalar, ROCK aracılıklı kalsiyum duyarlılığının hipertansiyon ve koroner arter spazmı gibi hastalıklarda rolü olduğunu ortaya çıkarmıştır (1).



Şekil 1. Düğ kas kasılmasının düzenlenmesinde Rho/Rho kinaz sinyal ileti yolunun rolü. *Rho-GEF*, guanin nükleotit değişim faktörü; *Rho-GAP*, GTPaz aktive edici protein; *Rho-GDI*, GTPaz ayrıştırma inhibitörü; *Rho-GTP*, etkin Rho; *Rho-GDP*, etkisiz Rho; *PLC*, fosfolipaz C; *PKC*, Protein kinaz C; *IP3*, İnositol trifosfat; Ca^{2+} , kalsiyum; *CaM* kalsiyum kalmodulin kompleksi; *CPI-17*, protein kinaz C ile aktive fosfataz inhibitörü; *ROCK*; Rho kinaz; *MHZ*, miyozin hafif zincir; *MF*, miyozin fosfataz; *MBS*, miyozin bağlayıcı alt ünite; *ADP*, adenozin difosfat; *ATP*, adenozin trifosfat.



Şekil 2. Rho kinaz etkinliğinin düzenlenmesi. *PH*, plekstrin homoloji bölgesi; *RBB*, Rho bağlayıcı bölge; *GTP*, guanozin 5'-trifosfat; *GDP-Rho*, Rho'nun etkisiz biçimi; *GTP-Rho*, Rho'nun etkin biçimi.

Rho Kinaz'ın Sentez ve Etkinliğinin Düzenlenmesi

Küçük G proteinleri öteki G proteinleri gibi guanozin difosfat (*guanosine diphosphate*; GDP) ve GTP ile özgül etkileşme ve GTPaz etkinliği için sorumlu amino asit dizilimine sahiptir (7). Küçük G proteinleri sentezlendikten sonra lipitler ile translyasyon sonrası değişikliklere gereksinim duyarlar. Bu lipit yapıları genellikle palmitoil (P), farnesil (F) ve geranilgeranil (GG)'dir.

Küçük G proteinlerinin lipit modifikasyonu, bunların hücre zarına ve düzenleyicilere bağlanmaları ve alt efektörlerini etkinleştirebilmeleri için gereklidir (17). Küçük G proteinleri GDP-bağlı etkisiz ve GTP-bağlı etkin olmak üzere birbirine dönüşebilen iki biçimdedir (Şekil 2) (18). Rho etkinliğinin GTPazı etkinleştirici protein (*GTPase activating protein*; GAP) ve GTPaz ayrışma inhibitör (*GTPase dissociated inhibitor*; GDI) olmak üzere iki, negatif ve guanin nükleotit değiştirici faktör (*Guanine nucleotide exchange factor*; GEF) olmak üzere bir pozitif düzenleyicisi vardır. Dinlenme durumundaki hücrelerde Rho-GDP ayrışma inhibitörü (Rho-GDI), GDP-Rho'ya bağlanır ve onu hücre zarından sökerek sitozole getirir. Hücreler bazı agonistler ile uyarılırlarsa Rho özgül GEF'ler, GDP ayrışmasını ve bunu ardından GTP bağlanmasını başlatarak Rho'nun etkinliğini artırır. Bunun ardından GTP-Rho C-terminali geranil-geranillenmiş kuyruğu ile hücre zarına yönelir ve özgül hedefleri ile etkileşir (3). GAP'ler Rho'nun intrinsik GTPaz etkinliğini hızlandırarak ve onu etkisiz GDP-Rho'ya dönüştürerek negatif düzenleyiciler gibi çalışırlar (17). GAP, Rho'nun intrinsik GTPaz etkinliğini artırarak GTP'ye bağlı etkin biçimini inhibe eder. Bu GDP/GTP dönüşüm tepkimesinin hız kısıtlayıcı basamağı GDP'ye bağlı biçimden GDP'nin ayrılmasıdır. Bu tepkime oldukça yavaştır ve GEF tarafından uyarılır (19). Rho'nun etkinliği G proteinleri ile düzenlenir. G proteinleri küçük molekül ağırlıklı GTP bağlayıcı Rho proteinini etkinleştirir. Sfingozin 1 fosfat (S1P), sfingofosforilkolin (SPC) ve lizofosfatidik asit (LPA) lipit yapısında kalsiyum duyarılaştırıcı moleküllerdir ve RhoA/ROCK yolunu etkinleştirirler (18).

Rho/Rho Kinaz Yolunun Fizyolojik Olaylardaki Rolü

Damar düz kas hücre (DDKH) kasılması, MLC'nin fosforile ve defosforile olması ile düzenlenmektedir. Agonist aracılıklı DDKH kasılmasında MLC fosforilasyonu kasılma gücünün oluşumunda çok önemli bir basamaktır. MLC fosforilasyonu kalsiyum-kalmodulin ile etkinleştirilen MLCK ve MP ile iki şekilde düzenlenir (20). ROCK, küçük GTPaz Rho ile etkinleştirildiğinde MP'yi inhibe ederek agonist aracılıklı kalsiyum duyarılılaşmasında ve damar düz kas hücrelerinin aşırı kasılmasında kilit rol oynamaktadır (1). Aynı zamanda ROCK, damar düz kas kasılmasını, kalsiyum-kalmoduline bağımlı MLCK yolundan düzenlerken, protein kinaz C ile etkin fosfataz inhibitörünü

de fosforile ederek bu proteinin MP'yi inhibe etmesi sonucunda sağlamaktadır (21,22).

Rho/ROCK yolunun yalnızca damar düz kas hücre kasılmasının düzenlenmesinde değil, aynı zamanda hücrelerin göçü, çoğalması, apoptoz ve DNA'dan RNA polimeraz enzimi aracılığı ile RNA molekülü oluşumunun asıl düzenleyicisi olduğu iyi bilinmektedir (2).

Rho/ROCK yolu endotel hücrelerinin engelleme işlevi, yangı ve transendotel lökosit göçü, trombosit etkinleşmesi, tromboz, genetik bilginin genden proteine aktarılması ve oksidatif stresin düzenlenmesi olaylarında rol oynamaktadır (23). ROCK endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) sentezini eNOS mRNA'sının dayanıklılığını zayıflatarak azaltmaktadır. Rho'nun ya da ROCK'nin doğrudan inhibisyonu eNOS sentezindeki ve mRNA'nın dayanıklılığındaki azalmayı önlemektedir (24). Ek olarak, statinlerin Rho GTPazlar aracılığı ile damar yangısını ve arterosklerozu inhibe ederek damar duvarında yararlı etkileri olduğu bilinmektedir. Statinler Rho geranilgeranilasyonunu önleyerek eNOS sentezini artırmaktadır (18).

Rho/Rho Kinaz Yolunun Patolojik Olaylardaki Rolü

Ateroskleroz ve hipertansiyon gibi arteriyel hastalıklar düz kas hücrelerinin çoğalması ve hipertrofisi ile belirgindir. Bu durum, ekstraselüler matriksin damarın mediyol tabakasında birikmesi sonucu oluşan artmış damar duvar kalınlığı ile ilişkilidir. Arteriyel hastalıkların ortak özelliği damar düz kas hücre gerimini ve büyümesini düzenleyen endotel tabakasındaki kapasite kaybı olarak tanımlanan endotel işlev bozukluğudur. Endotel tabakasındaki zayıflık azalmış nitrik oksit (NO) üretimi ile sonuçlanır (25,26).

TNF- α ve IL-1 β gibi yangıya neden olan mediyatörler, MCP-1 ile VCAM-1 ve ICAM-1 gibi yapışma moleküllerinin sentezini artırarak monositlerin damar duvarında birikmesine ve yapışmasına aracılık ederler, sonuçta damar düz kas hücrelerinin çoğalması, göçü ve damar tıkanmasına neden olarak zedelenmeye neden olurlar (27).

Yapılan çalışmalar, Rho/ROCK yolunun hipertansiyon, koroner arter spazmı, anjina, ateroskleroz ve restenoz gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklarda önemli rol oynadığını göstermiştir (10). ROCK'nin statinler ya da öteki seçici inhibitörleri ile inhibisyonu eNOS sentezinde ve etkinliğinde artışa neden olur. Bununla birlikte, ROCK inhibisyonunun koruyucu etkilerine PI3K/Akt yolu ile eNOS etkinliğindeki artışın aracılık ettiği bildirilmiştir (28). eNOS sentezi ve etkinliğindeki artışın vasküler yangı ve ateroskleroz gelişiminde azalmaya neden olduğu bilinmektedir (29).

Rho Kinaz ve NO

ROCK'nin etkinliği arttığına yangı süreci, tromboz ve doku fibrozu hızlanır, buna karşın eNOS sentez ve etkinliği azalır. ROCK, yangıya neden olan mediyatörlerin (interlökin-6 [IL-6], MCP-1, interferon gama [IFN- γ] vb.), trombojenik (plazminojen aktivatör inhibitör [PAI] vb.) ve fibrojenik (transforme edici büyüme faktörü [TGF] vb.) moleküllerin sentezindeki artışa aracılık etmektedir. Damar endotel hücrelerinden NO, prostasiklin (PGI_2), endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör ve endotelin gibi damarlar üzerinde etkili maddeler salıverilmektedir. Özellikle endotel kaynaklı NO, damar geriminin sağlanması ve korunması, trombositlerin kümeleşmesinin önlenmesi, düz kas hücre çoğalmasının baskılanması ve damar duvarında lökosit birikiminin önlenmesi gibi olaylarda önemli rol oynamaktadır (30) eNOS sentez ve etkinliğinin baskılanması endotel işlev bozukluğuna ve ateroskleroze neden olmaktadır (31).

ROCK, eNOS sentez ve etkinliği üzerindeki negatif etkisi ile dolaylı olarak, santral sinir sistemi üzerindeki doğrudan etkisi ile damar gerimini ve kan akımını düzenlemektedir. Artmış ROCK etkinliği çeşitli kardiyovasküler hastalıklara neden olmaktadır. ROCK'nin baskılanması, eNOS sentezini artırmakta, yangı ve hücre göçünü azaltmakta, ayrıca anjiyotensin II aracılığı ile MCP-1 ve PAI sentezini azaltmaktadır (32). Dolayısı ile, ROCK'nin baskılanması kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yararlı görülmektedir.

Statinler ve seçici ROCK inhibitörlerinin koruyucu etkilerine eNOS sentez ve fosforilasyonundaki artış (fosfoinositit 3 kinaz/aktin [PI3K/Akt] yolu aracılığı ile) ve endotelial arjinaz etkinliğinin azaltılmasının aracılık ettiği bildirilmiştir (25,28). RhoA ya da ROCK endotelial arjinaz etkinliğini arttırmaktadır. Endotelial arjinaz, NO üretimini sınırlandırmaktadır. Rho A ya da ROCK'nin baskılanması, trombin aracılıklı endotelial arjinaz etkinliğini azaltmaktadır (33).

Rho Kinaz İnhibitörleri ve Kardiyovasküler Hastalıklardaki Rolü

ROCK inhibitörleri izokinolin türevleri, 4 aminopiridin türevleri, indazoller, amino ve üre türevleri olmak üzere 4 grupta incelenebilir. Bütün ROCK inhibitörleri ATP bağlanma alanları ile yarışır (34). Fasudil ve Y-27632 ilk keşfedilen küçük moleküllü ROCK inhibitörleridir (35). GSK269962A, H1152P, SB72077B, Wf536, Y-39983 ve Slx2119 (seçici ROCK-2 inhibitörleri), SAR407899 ise bilinen öteki ROCK inhibitörlerindedir (3). SAR407899, ağız yolundan uygulandığında etkili antihipertansif özellikleri olan yeni tanımlanmış güçlü ve seçici etkili bir ROCK inhibitörüdür (36).

ROCK'nin hipertansiyon, koroner arter spazmı, anjina, ateroskleroz, miyokardiyal iskemik ve reperfüzyonun neden olduğu zedelenme ve restenoz gibi düz kas hücrelerinin aşırı kasılması ve yangı ile belirgin çeşitli kardiyovasküler

hastalıkların patojenezinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (2,10). Damar düz kas kasılmasında MLC fosforilasyonu çok önemli bir basamaktır. MLC, MLCK ve MP etkinliklerinin düzenlemesi ile fosforile olmaktadır. Yapılan bir çalışmada, fasudilin ön koldaki damar gevşetici yanıtının, hipertansif hastalarda normotansif deneklere göre daha çok olduğu bulunmuştur. Sodyum nitroprusit (SNP)'nin vazodilatör yanıtı ise her iki grupta benzer bulunmuştur. Fasudilin ve SNP'nin arter içi infüzyonu ile kalp hızında ve sistemik arteriyel kan basıncında önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, hipertansif hastalarda periferik damar direncindeki artışın patojenezinde Rho/ROCK yolunun rol oynayabileceğini göstermiştir. Fasudilin arter içi infüzyonu hipertansif hastalarda ön koldaki damar gevşetici yanıtı belirgin derecede artırdığı bilinmektedir (37). Fasudil ven içi infüzyonu pulmoner hipertansif hastalarda pulmoner damar direncini belirgin derecede azaltmaktadır (15). Hipertansif pulmoner arterlerdeki endotel hücrelerin zedelenmesi ve çoğalması, damar düz kas hücrelerinin aşırı kasılması ile IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin oluşumunda artma (idiyopatik pulmoner arter hipertansiyon [PAH]'li hastalarda) gibi patolojik değişiklikler ile belirgin PAH tedavisinde günümüzde antikoagülan ilaçlar, damar gevşeticiler ve akciğer transplantasyonu uygulanmaktadır (38). Ancak, daha etkili ilaçların geliştirilmesine gerek duyulmakta olup, ROCK inhibitörleri, damar kasılmasını önleyici etkilerindeki seçiciliklerinden dolayı kalsiyum kanal blokörlerine yeğlenmektedir (8,28).

Fasudil uygulanan hastalarda asetilkolin ile oluşan göğüs ağrısı, miyokardiyal laktat üretimi ve EKG değişikliklerinin anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (39). Stabil efor anjinalı hastalarda fasudil uygulanmasından sonra hidroksifasudilin antianjinal etkisinin araştırıldığı bir faz 2 çalışmada çalışmada, fasudil tedavisinin maksimum egzersiz süresini uzattığı, yorucu egzersiz testinde 1 mm ST segment depresyonunun başlama zamanını önemli derecede geciktirdiği ve egzersiz sırasında kalp hızı ve kan basıncını tedaviden önce ya da sonra değiştirmedeği gözlenmiştir (40).

Fasudilin, subaraknoit hemoraji sonrası sık görülen ve MLC₂₀ ve miyozin bağlayıcı alt ünite (*myosine binding subunit*; MBS) fosforilasyonunun arttığı serebral vazospazmı kullanımı 1995 yılında Japonya'da onaylanmıştır (5). Aterosklerozda oldukça etkin olan ROCK, intimada doku faktörünün sentezini arttırmakta, mediya tabakasında damar düz kas hücrelerinin aşırı kasılmasına neden olmakta, çoğalmasını ve göçünü hızlandırmakta (MF inhibisyonu ile) ve apoptozu önlemektedir. ROCK, aynı zamanda yangıda rol oynayan hücrelerin adventisyada birikimini arttırmakta, endotel hücre kasılması ile geçirgenliğinde artışa neden olmaktadır ve sonuçta aterosklerozu arttırmaktadır. ROCK aracılıklı endotel yapıda zayıflık, artmış trombojenite,

aşırı kasılma, patolojik anjiyogenez ve vasküler yeniden yapılanma (*remodeling*) gibi hücrel yanıtlar birdenbire gelişen koroner sendrom gibi vasküler kriz ile sonuçlanabilmektedir (1). Uzun süre Y-27632 uygulamasının aterosklerotik plaklar içinde, yangı hücrelerinin birikimini ve aterosklerotik plak boyutunu da azalttığı bildirilmiştir (5).

ROCK'nin, miyokardiyal iskemi ve reperfüzyonun neden olduğu zedelenmenin patojenezinde rol oynadığı bilinmektedir. Köpeklerde yapılan *in vivo* bir çalışmada, reperfüzyon öncesi uygulanan fasudil, endotel işlev bozukluğunu önleyerek miyokardiyal infarktüs gelişimini baskılamıştır. İskemik miyokartta Rho sentezinin artmasının ardından erken reperfüzyon sırasında ROCK etkinliği artmaktadır. Fasudil damar gevşetici etkisini yalnızca düz kasılmasını önleyerek değil, aynı zamanda eNOS sentezini artırarak göstermektedir (2).

Rho/ROCK yolunun özellikle kalsiyum duyarlılaşması ve damar düz kas hücrelerinin aşırı kasılması ile yangı sürecinde kilit rol oynaması, kardiyovasküler hastalıkların patolojisindeki önemini artırmakta olup, yapılan klinik öncesi ve klinik çalışmalar, ROCK inhibitörlerinin bu hastalıkların tedavisinde kullanımı yönünde önemli gelişmeler göstermektedir. Bu nedenle, ROCK'nin kardiyovasküler hastalıklardaki rolünün yeterince anlaşılabilmesi, Rho/ROCK yolunun yer aldığı birçok patolojik durumda yeni terapötik yaklaşımlara olanak sağlaması açısından önem taşımaktadır.

Teşekkür

Bu makaleye yapmış oldukları katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. C. Kemal BUHARALIOĞLU'na ve Yrd. Doç. Dr. R. Belma KORKMAZ'a teşekkür ederim.

Kaynaklar

1. Uehata M, Ishizaki T, Satoh H, Ono T, Kawahara T, Morishita T, Tamakawa H, Yamagami K, Inui J, Maekawa M, Narumiya S. Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. *Nature* 1997; 389: 990-994.
2. Dong M, Yan BP, Liao JK, Lam YY, Yip GWK and Yu CM. Rho-kinase inhibition: a novel therapeutic target for the treatment of cardiovascular diseases. *Drug Discovery Today* 2010; 15: 15-16.
3. Shimokawa H, Rashid M. Development of Rho-kinase inhibitors for cardiovascular medicine. *Trends Pharmacol Sci.* 2007; 28(6): 296-302.
4. Mukai Y, Shimokawa H, Matoba T, Kandabashi T, Satoh S, Hiroki J, Kaibuchi K, Takeshita A. Involvement of Rho-kinase in hypertensive vascular disease. A novel therapeutic target in hypertension. *FASEB J* 2001; 15: 1062-1064.
5. Tachibana E, Harada T, Shibuya M, Saito K, Takayasu M, Suzuki Y, Yoshida J. Intra-arterial infusion of fasudil hydrochloride for treating vasospasm following subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)* 1999; 141:13-19.
6. Fukata Y, Amano M and Kaibuchi K. Rho-Rho-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22: 32-39.
7. Takai Y, Sasaki T, Matozaki T. Small GTP-binding proteins. *Physiol Rev* 2001; 81: 153-208.
8. Hirata K, Kikuchi A, Sasaki T, Kuroda S. Involvement of rho p21 in the GTP enhanced calcium ion sensitivity of smooth muscle contraction. *J Biol Chem* 1992; 267:8719-8722.
9. Miura Y, Kikuchi A, Musha T, Kuroda S, Yaku H, Sasaki T, Takai Y. Regulation of morphology by rho p21 and its inhibitory GDP/GTP exchange protein (rho GDI) in Swiss 3T3 cells. *J Biol Chem* 1993; 268:510-515.
10. Shimokawa H, Takeshita A. Rho-kinase is an important therapeutic target in cardiovascular medicine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(9):1767-75
11. Chen Z, Sun J, Pradines A, Favre G, Adnane J, Sebti SM. Both farnesylated and geranylgeranylated RhoB inhibit malignant transformation and suppress human tumor growth in nude mice. *J Biol Chem* 2000; 275:17974-8.
12. Suwa H, Ohshio G, Imamura T, Watanabe G, Ariei S, Imamura M, Narumiya S, Hiai H, Fukumoto M. Overexpression of the rhoC gene correlates with progression of ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Br J Cancer* 1998; 77(1):147-52.
13. Van Golen KL, Davies S, Wu ZF, Wang Y, Bucana CD, Root H, Chandrasekharappa S, Strawderman M, Ethier SP, Merajver SD. A novel putative low-affinity insulin-like growth factor-binding protein, LIBC (lost in inflammatory breast cancer), and RhoC GTPase correlate with the inflammatory breast cancer phenotype. *Clin Cancer Res* 1999; 5(9):2511-9.
14. Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, Diekmann D, Hall A. The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 1992; 70(3):401-10.
15. Somlyo AP, Somlyo AV. Signal transduction by G-proteins, rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. *J Physiol* 2000; 15: 77-185.
16. Nossaman BD, Nossaman VE, Murthy SN, Kadowitz PJ. Role of the RhoA/Rho-kinase pathway in the regulation of pulmonary vasoconstrictor function. *Can J Physiol Pharmacol* 2010; 88(1):1-8.

17. Casey PJ, Seabra MC. Protein prenyl transferases. *J Biol Chem* 1996; 271:5289-5292.
18. Rikitake Y, Liao JK. ROCKs as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2005; 3(3): 441-51.
19. Ark M, Yılmaz N, Yazıcı G, Kubat H, Aktaş S. Rho-associated protein kinase-II (rock-II) expression in normal and preeclamptic human placentas. *Placenta* 2005; 26: 81-84.
20. Somlyo AP, Somlyo AV. Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases and myosin phosphatase. *Physiol Rev* 2003; 83:1325-1358.
21. Kitazawa T, Eto M, Woodsome TP, Khalequzzaman M. Phosphorylation of myosin phosphatase targeting subunit and CPI-17 during Ca²⁺ sensitization in rabbit smooth muscle. *J Physiol* 2003; 546: 879-889.
22. Kureishi Y, Kobayashi S, Amano M, Kimura K, Kanaide H, Nakano T, Kaibuchi K, Ito M. Rho-associated kinase directly induces smooth muscle contraction through myosin light chain phosphorylation. *J Biol Chem* 1997; 272:12257-12260.
23. Rolfe BE, Worth NF, World CJ, Campbell JH, Campbell GR. Rho and vascular disease. *Atherosclerosis* 2005; 183: 1-16.
24. Takemoto M, Sun J, Hiroki J, Shimokawa H, Liao JK. Rho kinase mediates hypoxia-induced downregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2002; 106: 57-62.
25. Budzyn K, Marley PD, Sobey CG. Targeting rho and rho kinase in the treatment of cardiovascular disease. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 27: 97-104.
26. Pacaud P, Sauzeau V, Loirand G. Rho proteins and vascular diseases. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2005; 98: 249-254.
27. Suzuki J, Izawa A, Isobe M. Antivascular cell adhesion molecule-1 and anti-very late antigen-4 monoclonal antibodies inhibit neointimal hyperplasia in the murine model of arterial injury. *Acta Cardiol* 2004; 59: 147-152.
28. Wolfrum S, Dendorfer A, Rikitake Y, Stalker TJ, Gong Y, Scalia R, Dominiak P, Liao JK. Inhibition of Rho-kinase leads to rapid activation of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase Akt and cardiovascular protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1842-1847.
29. Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 290(3): C661-8.
30. Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989;8670:997-1000.
31. Budzyn K, Marley PD, Sobey CG. Targeting Rho and Rho-kinase in the treatment of cardiovascular disease. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27(2):97-104
32. Shimokawa H. Rho-kinase as a novel therapeutic target in treatment of cardiovascular diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; 39:319-327
33. Ming XF, Barandier C, Viswambharan H, Kwak BR, Mach F, Mazzolai L, Hayoz D, Ruffieux J, Rusconi S, Montani JP, Yang Z. Thrombin stimulates human endothelial arginase enzymatic activity via RhoA/ROCK pathway: implications for atherosclerotic endothelial dysfunction. *Circulation*, 2004; 110:3708-3714.
34. Mueller BK, Mack H, Teusch N. Rho-kinase, a promising drug target for neurological disorders. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 387-398.
35. Hirooka Y, Shimokawa H. Therapeutic potential of rho-kinase inhibitors in cardiovascular diseases. *Am J Cardiovasc Drugs* 2005;5(1):31-9.
36. Löhn M, Plettenburg O, Ivashchenko Y, Kannt A, Hofmeister A, Kadereit D, Schaefer M, Linz W, Kohlmann M, Herbert JM, Janiak P, O'Connor SE, Ruetten H. Pharmacological characterization of SAR407899, a novel rho-kinase inhibitor. *Hypertension* 2009;54(3):676-83.
37. Masumoto A, Hirooka Y, Shimokawa H, Hironaga K, Setoguchi S, Takeshita A. Possible Involvement of Rho-kinase in the Pathogenesis of Hypertension in Humans. *Hypertension* 2001;38:1307-1310.
38. Fukumoto Y, Tawara S, Shimokawa H. Recent progress in the treatment of pulmonary arterial hypertension: expectation for rho-kinase inhibitors. *Tohoku J Exp Med* 2007;211:309-320.
39. Mohri M, Shimokawa H, Hirakawa Y, Masumoto A, Takeshita A. Rho-Kinase Inhibition With Intracoronary Fasudil Prevents Myocardial Ischemia in Patients With Coronary Microvascular Spasm. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:15-9.
40. Shimokawa H, Hiramori K, Inuma H, Hosoda S, Kishida H, Osada H, Katagiri T, Yamauchi K, Yui Y, Minamino T, Nakashima M, Kato K. Antianginal effect of fasudil, a Rho-kinase inhibitor in patients with stable effort angina; a multicenter study. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2002; 40: 751-761.