



Kardiyovasküler Hastalıklarda Netrin-1'in Rolü

Role of Netrin-1 in Cardiovascular Diseases

Ayşegül Görür¹, Nil Doğruer Ünal², Lülüfer Tamer¹

¹Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin, Turkey

²Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin, Turkey

ABSTRACT

Netrins which are a family of laminin-like proteins, first described for their role in embryonic axonal guidance. These chemotropic molecules act as a bifunctional regulator of neuron migration. Researchers have proven the roles of netrin-1 in the development and formation of non-neural tissue apart from its role in the central nervous system. In cardiovascular area, netrin-1 is involved in angiogenesis, promotes atherosclerosis, protects the heart against ischemia–reperfusion injury, and reduces the infarct size. These findings make netrin-1 an important therapeutic target especially with its contradicted effects in physiological and pathophysiological processes. The aim of this review is to highlight the diverse and opposite effects and the functions of netrin-1 signalling during the cardiovascular diseases.

Key words: Netrin-1, cardiovascular diseases, atherosclerosis, angiogenesis ischemia

ÖZ

Laminin benzeri proteinlerin bir ailesi olan netrinler, başlangıçta embriyonik aksonal rehberlikteki rolleri ile tanımlanmıştır. Kemotropik özellik gösteren bu moleküller nöron göçünün iki fonksiyonlu bir düzenleyicisi gibi davranırlar. Araştırmacılar, merkezi sinir sistemindeki rolünden bağımsız olarak netrin-1'in sinir haricindeki dokuların gelişiminde ve oluşumunda rol oynadığını kanıtlamıştır. Kardiyovasküler alanla ilgili olarak, netrin-1 anjiyogenezi teşvik eder ve ateroskleroza hızlandırır, kalbi iskemi-reperfüzyon hasarına karşı korur ve infarktüs boyutunu azaltır. Bu bulgular, özellikle birçok fizyolojik ve patofizyolojik süreçte birbiriyle çelişebilen etkileri olduğu için netrin-1'i önemli bir terapötik hedef haline getirmektedir. Bu derlemede ateroskleroz, anjiyogenez ve iskemi reperfüzyon onarımı da dahil olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar sırasında netrin-1 sinyallerinin işlevleri gözden geçirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Netrin-1, kardiyovasküler hastalık, anjiyogenez, ateroskleroz iskemi



Giriş

Dünya üzerinde yaşayan insanların her yıl yaklaşık olarak 17,5 milyonu kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle hayatını kaybetmektedir ve bunların da çoğunluğunu koroner arter hastalıkları oluşturmaktadır. Koroner arter hastalığının altında yatan patolojik süreç, patofizyolojisi oldukça karmaşık ve multifaktöriyel olan aterosklerozdur. Son yıllarda yapılan çalışmalarla ateroskleroz düzenlenmesinde önemli roller üstlenen moleküllerden birisinin de netrin-1 olduğu gösterilmiştir¹.

İlk olarak embriyonik gelişim sırasında aksonal kılavuz ipuçları olarak tanımlanan netrinler, laminin benzeri proteinlerin bir sınıfıdır. Netrin-1'in silinmiş kolorektal kanser (DCC; Deleted in Colorectal Cancer) ve UNC5 (uncoordinated-5) reseptörlerinin nöronlar dışındaki hücrelerde tanımlanmış olması, bu proteinin merkezi sinir sistemi dışında da rolleri olabileceği hipotezini güçlendirmiştir². Araştırmacıların bu alanlara yönelmesiyle netrin-1'in anjiyogenezden inflamasyona uzanan birçok fizyolojik yanıtta yer aldığı ortaya çıkmıştır. Birden fazla fizyolojik süreçte yer alması netrin-1'i potansiyel bir terapötik hedef haline getirmektedir³.

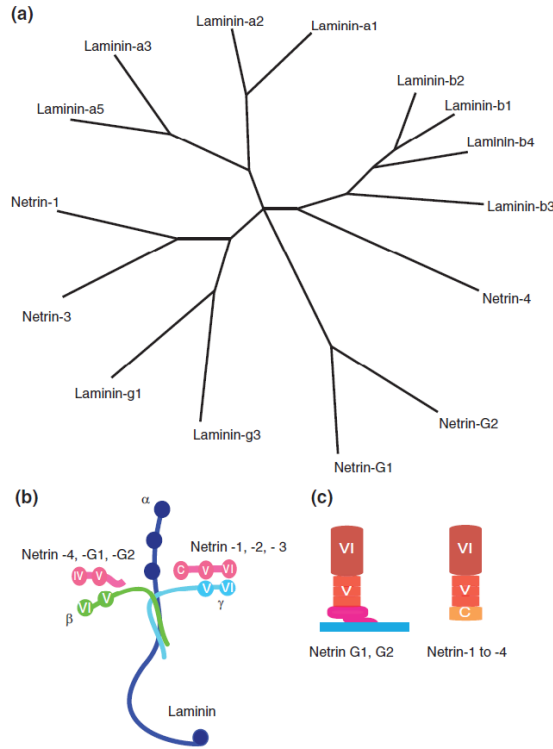
Netrin-1'in aterosklerozun düzenlenmesinde rol oynadığı birçok çalışmayla gösterilmiş olmasına rağmen, bu rolün hastalıktan koruyucu mu, yoksa hastalığı tetikleyici mi olduğu konusu ise halen tartışmaya açık durumdadır. Benzer şekilde akut inflamasyonda netrin-1'in durumuna açıklık getirilmeye çalışılması da bir diğer araştırma alanını oluşturmaktadır¹. Bu makale ile netrin-1'in kardiyovasküler patofizyolojide oynadığı çeşitli rollere ve bu rollerin etrafındaki birbiriyle çelişebilen tartışmalara açıklık getirilmesi amaçlanmıştır.

Netrin Protein Ailesi

Netrinler, glikoprotein yapıda yüksek ölçüde korunmuş kılavuz moleküllerinin küçük bir ailesidir. Embriyogenez sırasında hücre ve akson göçünü yönlendiren hücre dışı proteinlerin bir ailesidir. Netrinler, ilk defa 1990 yılında bir nematod olan *Caenorhabditis elegans*'da keşfedilmiştir. Sanskritçe 'netr' kelimesinden köken almakta ve 'kılavuzluk eden, öncülük yapan' anlamına gelmektedir².

İlk tanımlanan ve sinirsel gelişmeyi düzenlediği rapor edilen netrin proteini, *C. elegans* standart adlandırma protokolüne göre UNC-6 olarak adlandırılmıştır². UNC-6'nın memelilerdeki ilk homoloğu 1994 yılında keşfedilmiş ve bunun kemirgenlerin omuriliğinde bulunan kommissural akson için hayati bir rehber olduğu bildirilmiştir³. 2009 yılı itibarıyla, memelilerde netrin gen ailesinin 5 üyesi belirlenmiştir: *netrin-1*, *netrin-3*, *netrin-G1*, *netrin-G2* ve *netrin-4* (β -*netrin*

olarak da bilinir). *Netrin-1*, *netrin-3* ve *netrin-4* membrandan sekrete edilirken, *netrin-G1* ve *netrin-G2* iki adet glikozilfosfatidilinositol ile membrana bağlı olarak bulunur. *Netrin-G1* ve *netrin-G2*'nin *netrin-1*, *netrin-3* ve *netrin-4*'ten bağımsız olarak evrimleştiği düşünülmektedir (Şekil 1a).



Şekil 1. Netrin protein ailesi.

(a) Netrinler laminin süper ailesinin üyeleridir. İnsan protein dizinlerine dayanan bir filogenetik ağaç, netrin ve laminin ailesi üyeleri arasındaki ilişkiyi gösterir. (b) Laminin 1 proteini, α (mavi), β (yeşil) ve γ (turkuaz) zincirlerinden oluşan bir heterotrimerdir. 1'den 3'e kadar olan netrinlerin amino terminal VI ve V domainleri (kırmızı), laminin 1'in γ zinciriyle homologdur. Netrin 4, G1 ve G2'deki bu domainler, laminin 1'in β zincirine daha fazla benzemektedir. (c) Netrin aile üyelerinin domain organizasyonu. Netrin 1-4, sekrete edilen proteinlerdir ve bir karboksi terminal C- domaini (C) içerirler, buna karşılık netrin G1 ve G2 plazma membranına bir GPI bağlayıcısı (pembe) ile bağlanırlar. GPI: glikozilfosfatidilinositol.

Netrin G'lerin orthologları yalnızca omurgalı türlerde tespit edilmiştir. Şu ana kadar omurgasızlarda karakterize edilen tüm netrin proteinleri (*C. elegans* UNC-6 da dahil olmak üzere) membran tarafından sekrete edilen tiptedir. Sekrete edilen netrinler bazı hücreler için çekici, diğer bazı hücreler için itici olma özelliği ile çift fonksiyon göstermektedir². Netrin proteini, evrimsel olarak hücre dışı matriks proteini laminin süper ailesinin bir üyesidir. Netrin-1 ve netrin-3'ün amino terminal dizisinin üçte ikisi, laminin-γ1 zincirinde bulunan amino terminal dizisiyle yüksek benzerlik gösterirken, netrin-G1, netrin-G2 ve netrin-4'ün amino terminal dizisi laminin-β1 zincirinin amino terminal dizisi ile yüksek benzerlik göstermektedir (Şekil 1b)^{2,4,5}.

Bu protein ailesinin farklı işlevleri ve etki mekanizmaları, NTN1 geni tarafından kodlanan netrin-1 çalışması ile daha iyi karakterize edilmiştir. Netrinler, yaklaşık 60-80 kDa ağırlığında olan ve yapısında 3 ana domain (bölge) (V, VI ve C) bulunan protein ile amino terminal sinyal peptidi kodlarlar(Şekil 1c)^{2,4}. Yapısal olarak netrin, VI ve V nolu amino terminal domainleri ile laminine benzemektedir. Amino ucunda bulunan domain VI globüler yapıdadır. Bunu, üç epidermal büyüme faktörü tekrarından oluşan domain V takip eder. Domain VI ve V, DCC ve UNC-5 ailesinin netrin-1 reseptörüne bağlanır ancak, etkileşimin kesin moleküler detayları henüz belirlenmemiştir. Netrinlerin karboksi terminal domaini (C domaini) ise bazik amino asitler bakımından zenginleştirilmiştir ve metalloproteinaz protein ailesinin doku inhibitörleri ile bazı dizi benzerliği bulunmaktadır^{6,7}. Bu bazik aminoasit dizi, yüksek afiniteye sahip heparin ile bağlanır ve sekrete edilen netrinleri hücre yüzeyine sunmaya veya heparin sülfat proteoglikanları ile etkileşimler yoluyla ekstrasellüler matrikste tutmaya katkıda bulunabilir⁸.

Netrin Reseptörleri ve Sinyal İletimi

Netrinler, kemotropik tepkileri ve yapışkan mekanizmaları harekete geçirmek için bir dizi farklı reseptöre bağlanırlar. Sinyal transdüksiyonu ve hücre yapışması gibi süreçlerde yer alan bazı netrin reseptörleri, geniş bir protein grubunu kodlayan immünooglobulin süper ailesine aittir. Netrin-1'in reseptörlerine bağlanması, aktin ve mikrotübül ağlarının yeniden düzenlenmesi yoluyla sitoskeletonun yapısını değiştirir^{9,10}.

Netrin-1 sinyali etkisini, UNC5A-D veya UNC5H1-4, down sendromu hücre adhezyon molekülü (DSCAM), integrin α3β1 ve α6β3, serebellin 4 (CBLN4) içeren dört ilave reseptörün yanı sıra reseptör olup olmadığı net olarak açıklığa kavuşturulamamış olan adenozin reseptörü (A2bR) aracılığıyla gösterir(Şekil 2)¹¹⁻¹⁹.

Tanımlanan ilk netrin reseptörleri, omurgalılarda DCC ve DCC ile yaklaşık %50 amino asit dizi

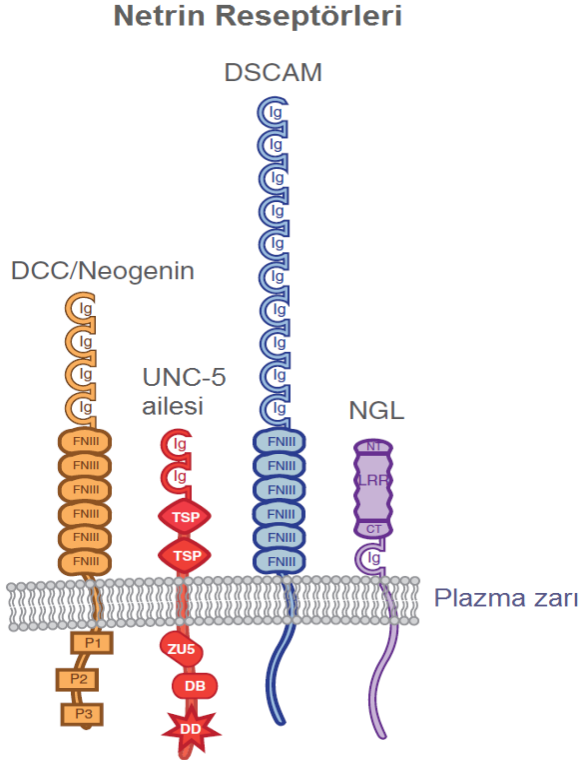
benzerliği olan neogenini de içeren DCC protein alt ailesine aittir. DCC, neogenin ve bunların ortologları, dört immünglobülin alanından ve altı fibronektin tip III (FNIII) tekrarlarından oluşan bir hücre dışı alana sahip transmembran proteinlerdir. DCC'deki dördüncü ve beşinci FNIII tekrarları, netrin-1'i bağlamak için gereklidir¹².

Tek geçişli membranlar arası alanın ardından, sitoplazmik sinyal iletim moleküllerinin alımında önemli rollere sahip olduğu düşünülen P1, P2 ve P3 olarak adlandırılan üç yüksek düzeyde korunmuş hücre içi alanı vardır. Bu alanların her birinin spesifik fonksiyonel katkısı bilinmemektedir^{13,20,21}. Omurgalılar, *C. elegans*'daki UNC-5 reseptörüne homolog Unc5A, Unc5B, Unc5C ve Unc5D olmak üzere dört netrin reseptörü içermektedir. Unc5 reseptörleri, hücre dışı alanda iki immünglobülin tekrarı ile iki trombospondin tip I modülü bulunan transmembran proteinlerdir. Unc5 proteinlerinin hücre içi alanı, fonksiyonu henüz belirlenemeyen ve Zona Occludens-1'in bir bölümüne olan homolojisinden ismini alan bir ZU-5 alanı ve apoptotik sinyal ile ilişkili bir ölüm alanı (death domain) içerir. Netrin bağlanması için Unc5 proteinlerinin immünglobulin tekrarları gereklidir^{1,22-24}.

Down Sendromu hücre adezyon molekülü, hücre dışı alanlarında on immünglobülin bölge ve altı FNIII tekrar içeren bir tip I transmembran reseptördür. Tanımlanmış herhangi bir ligandı bulunmadığı için uzun süredir yetim reseptörü olarak bilenen DSCAM'ın, yakın zamanda netrine bağımlı akson rehberliğine katkıda bulunan netrin-1 için reseptör olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Netrin-1, DSCAM'ın immünglobulin alanlarına bağlanır. DSCAM'ın netrin-1 tarafından aktive edilen sinyal yolağı henüz tanımlanmamıştır^{25,26}.

Netrin aile üyelerinin akson rehberliği (netrin-1 ve netrin-3), doku morfogenez ve hücre-hücre yapışması (netrin-1), sinaptojenez (netrin-G'ler, UNC-6) ve anjiyojeniz (netrin-4) gibi farklı hücrel görevlerde rol aldığı bilinmektedir. Netrinlerin farklı işlevsel rolleri netrin-1'in çalışmalarında en iyi şekilde karakterize edilmiştir²⁷⁻²⁹. Netrin-1 sinyali karmaşıktır ve her durumda tercih edilen bir yolak değildir. Netrin-1'in DCC'ye bağlanması aksonal çekilmeye neden olurken, UNC5 reseptör ailesine bağlanması aksonal itilmeye neden olur. Netrin-1'in DCC'ye ve UNC5B'ye bağlanması, MAPK, PKC, SRC, PI3 kinaz, Rac ve Rho kinaz, fokal adezyon kinazı (FAK) ve diğerlerini içeren birçok sinyal yolunun aktivasyonunu indükler (Şekil 3)³⁰. Netrin-1'in reseptörlerinden olan DCC ve UNC5B, bağımlı reseptörler olarak adlandırılır. Bu reseptörler ligand yokluğunda bile sinyal gönderirler. Ligand mevcut olduğunda bu reseptörler, hücrel proliferasyon, farklılaşma, göç veya hayatta kalmaya yol açan pozitif bir sinyal yolunu indüklerler. Ligandlarının yokluğunda, bu reseptörler "klasik" reseptörler gibi inaktif değildirler,

ancak daha çok kaspaz bağımlı apoptotik hücre ölümünü tetikleyen "negatif sinyal" yolunu uyarırlar³¹⁻³³.

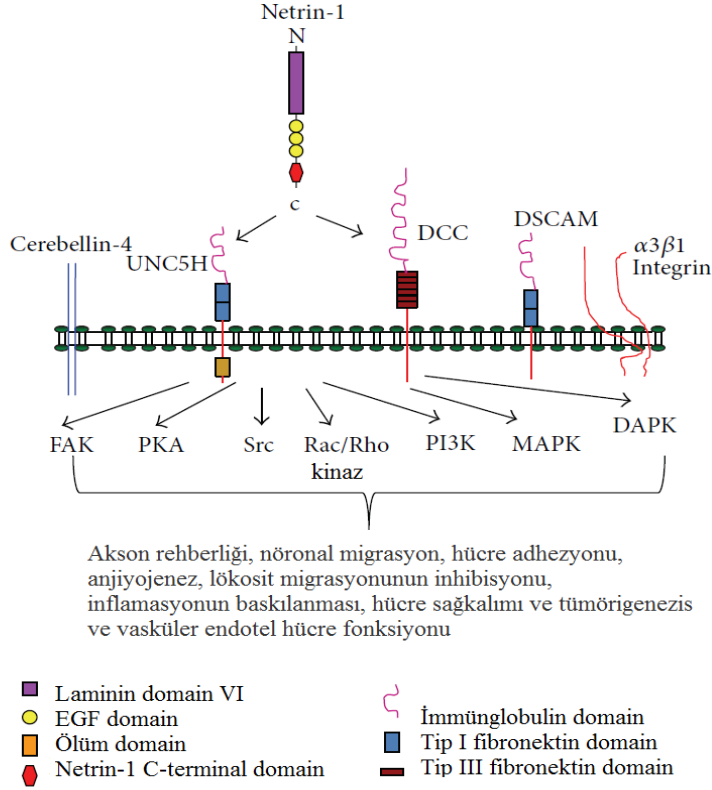


Şekil 2. Netrin reseptör ailesi

Netrin reseptörleri, tek geçişli transmembran proteinleri ve Ig süper ailesinin üyeleridir. Bunlar arasında silinmiş kolorektal kanser (DCC), omurgalılarda bulunan DCC'ye paralog neogenin, UNC5 homolog ailesinin üyeleri, down sendromu hücre adhezyon molekülü (DSCAM), ve netrin G ligandları (NGL) bulunur. CT, C-terminal sisteinden zengin başlık yapısı; DB, DCC bağlama domaini; DD, ölüm domaini; FNIII, fibronektin tip III domain; Ig, immüoglobülin domain; LRR, lösin açısından zengin tekrar; NT, N-terminal sisteinden zengin başlık yapısı; P1, P2 ve P3, DCC'nin sitoplazmik alanındaki korunmuş bölgeler; TSP, trombospondin tip 1 (TSP-1) domain; ZU5, zona occludens 1 ile homoloji gösteren zona occludens 5 (ZU-5) domain.

DCC'nin, yapısında klasik bir ölüm alanı bulunurken, UNC5B reseptöründe bulunmaz. Bununla birlikte, her iki reseptör de ligandları olan netrin-1 yokluğunda apoptozisi indükleme

yeteneğine sahiptir. Sekrete edilen netrin proteinlerinin aksine netrin-G'ler, netrin-G ligandları (NGL) olarak adlandırılan transmembran proteinlerini bağlarken, DCC, neogenin veya UNC5 proteinleri ile etkileşime girdiği görülmemiştir³¹⁻³³.



Şekil 3. Netrin-1 reseptör sinyali ve bilinen fonksiyonları.

Netrin-1'in, uncoordinated-5 H (UNC5H1-4) silinmiş kolorektal kanser (DCC), down sendromlu hücre adhezyon molekülü (DSCAM), integrinler ($\alpha3\beta1$ ve $\alpha6\beta3$) ve serebellin-4'ü içeren birçok reseptörü bağladığı bilinmektedir. Netrin-1'in bu reseptörlere bağlanmasının, fokal adhezyon kinaz (FAK), protein kinaz A (PKA), src kinaz, Rac/Rho kinaz, fosfor inositol 3-fosfat aktive kinaz (PI3K) ve mitojen aktive edilmiş kinaz (MAPK) dahil olmak üzere birçok sinyal yolunu aktive ettiği bilinmektedir. Ölümle ilişkili protein kinaz (DAPK) aktivasyonu ise ligand bağlanmasının olmaması durumunda oluşur. Bu yolların aktivasyonu, şekilde listelenen hücre fonksiyon değişiklikleri ile ilişkilendirilmiştir.

Yapılan çalışmalarla netrin proteinlerinin sinir sisteminde hücre ve akson göçünü direkt yönlendirdiği ve sinirsel gelişim sırasında akson arborizasyonu ve sinaps oluşumunu etkilediği bildirilmiştir. Elde edilen son bulgular, netrinlerin merkezi sinir sisteminde oligodendroglial paranodal kavşakların organizasyonunun sürdürülmesi de dahil olmak üzere hücre-hücre etkileşimlerini düzenlediğinin kanıtlarını ortaya koymaktadır. Ayrıca son çalışmalar, netrinle ilişkili değişikliklerin insanın sinir ağlarını ve nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesini etkileyebileceğini göstermektedir³⁴.

Sinir sistemi dışındaki bir takım dokularda da eksprese edilen netrin proteinleri ve bunların reseptörleri, hücre adezyonu ve doku morfogenezini düzenleyerek gelişim sırasında anahtar rol oynarlar¹¹. Akson rehberliğinin yönlendirilmesine ek olarak, netrin-1, nöron göçünün çift işlevli düzenleyicisi olarak da görev yapar³⁵. Santral sinir sistemindeki aksonal rehberlik görevine ek olarak, netrinin kanser regülasyonunda da rol oynadığı yeni çalışmalarla gösterilmiştir. Netrin-1 düzeylerinin tümörlerde upregüle olması kanser başlangıçlarında kullanılabilir bir biyobelirteç olabilme ihtimalini gündeme getirmiştir. Renal, karaciğer, prostat, menanjyom, hipofizer adenom, glioblastom ve meme kanserli hastaların kanlarında yüksek düzeyde netrin bulunmuştur³⁶⁻³⁸. Ayrıca, netrin-1'in, kardiyovasküler hastalıklar, böbrek hastalıkları ve diğer bazı hastalıklarda, sinir hücreleri haricindeki dokuların gelişim ve oluşumunda rol oynadığı da gösterilmiştir^{1,39-42}.

Kardiyovasküler Hastalıklarda Netrin-1

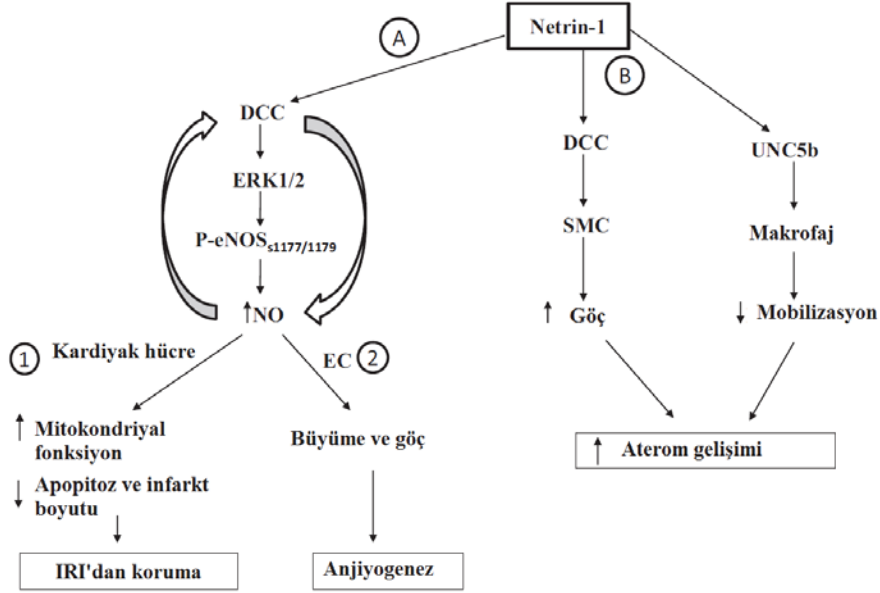
Netrin-1'in kardiyoprotektif bir ajan olarak görev yaptığı, ateroskleroz, anjiyogenez ve iskemi-reperfüzyon hasarlarında bu görevi nedeniyle önemli roller üstlendiği gösterilmiştir.

Anjiyogenezde Netrin-1

Yetişkinlerde vaskülarizasyon bir kez oluşuktan sonra stabil bir konumda kalır. İleri anjiyogenez genellikle kanser veya inflamatuvar barsak hastalıkları gibi patolojik koşullarda ortaya çıkar. Miyokardiyal veya serebral iskemi gibi durumlarda, anjiyogenez hipoksik dokuya kan akışının sağlanmasına neden olduğu için yararlıdır. Ancak miyokardiyal iskemiye takiben kısa dönemde yararlı etkileri olan anjiyogenez, uzun dönemde ventriküler fonksiyonda azalmaya neden olur. Hipoksik kardiyak dokunun sağlıklı revaskülarizasyonunu sağlayabilmek için, VEGF ve bazal fibroblast büyüme faktörü (bFGF) gibi pro-anjiyogenik faktörlerle tedavi gibi tedavileri de içeren terapötik miyokardiyal anjiyogenez teknikleri üzerinde yoğun olarak çalışılmaktadır^{1,43}.

Netrin-1, başlangıçta sadece bir aksonal rehberlik proteini olarak tanımlandıysa da, kısa bir süre

sonra kan damarları ile sinir oluşumunun birbirlerine olan benzerliği araştırmacıları bu proteinin embriyonik vaskülogenez ve anjiyogenezdeki rolleri konusunda sorular sormaya itmiş ve hemen ardından da embriyonik vasküler paternde netrin-1'in oynadığı roller açıklığa kavuşturulmuştur^{39,40}.



Şekil 4. Kardiyovasküler hastalıkta netrin-1 sinyalizasyonu.

DCC; Deleted colorectal cancer, ERK1/2; Extracellular signal-regulated protein kinases 1 and 2-ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz 1/2, P-eNOS_(s1177-1179); phosphorylated endothelial nitric oxide synthase- fosforile endotelial nitrik oksit sentaz, NO; nitric oxide- nitrik oksit, EC, Endothelial cell- endotel hücre, SMC; smooth muscle cell- düz kas hücresi, IRI; Ischemia Reperfusion Injury- iskemi reperfüzyon hasarı.

Ratlarla gerçekleştirilen bir çalışma ile netrin-1'in plasentadaki anjiyogenezde oynadığı rolle fetüs sağ kalımında hayati önem taşıdığı gösterilmiştir⁴⁴. Bu çalışmanın sonucuna dayanarak gelecekte vasküler hastalıkların tedavisinin plasentada gerçekleştirilebilme ihtimalinden söz edilebilir. Bunları takiben çalışmalar bu kez de netrin-1'in postnatal anjiyogenez ve neovaskülarizasyondaki rolleri üzerine yoğunlaşmaya başlamıştır^{1,43}.

Netrin-1 proliferasyonu uyarır, göçü indükler ve VEGF ve PDGF yolları ile karşılaştırılabilir

spesifik bir aktivite yolağını kullanarak endotel hücreler ile vasküler düz kas hücrelerinin adezyonunu sağlar⁴⁵. Park ve arkadaşları endotel ve vasküler düz kas hücrelerini izole ettikleri çalışmada, ortama netrin-1 eklemişler ve insan aortik endotel hücreleri ve mikrovasküler endotel hücrelerin netrin-1 varlığında artmış proliferasyonunu göstermişlerdir. Bu artış ortama VEGF eklenmesiyle oluşan proliferasyonla aynı düzeydedir. İnsan aort vasküler düz kas hücrelerinin (VSMC) kullanıldığı çalışmalarda da, proliferasyonu indüklemeye amaçlı eklenen VEGF ve PDGF ile netrin-1'in indükleyici olarak eklendiği çalışmaların sonuçları benzerlik göstermiştir. Netrin-1 sadece endotel hücreler için değil, VSMC için de güçlü kemoatraktan özellikler sergilemektedir⁴⁰.

Endotelium üzerine netrin-1'in etkilerinin biyomoleküler mekanizması NO üretiminin uyarılması sonucu apoptozu indükleyecek olan kaspaz inhibisyonu yoluyla etki gösteren VEGF sinyalizasyonu ile benzerlik göstermektedir^{45,46}. Netrin-1'in anjiyogenezi indüklemeye mekanizmasının NO-bağımlı olduğu, netrin-1 aracılı NO uyarımının ise ERK 1/2 ve DCC yolları ile gerçekleştiği araştırmalarla gösterilmiştir⁴⁷. Netrin-1'in DCCyi aktive etmesi ile önce ERK1/2 aktivasyonu ve hemen ardından fosforile eNOS'tan NO üretimi gerçekleşmektedir. Üretilen NO'nun kendisi de ileri beslemeli bir siklus oluşturacak şekilde ERK1/2 aktivasyonuna katkıda bulunur. NO, daha sonra netrin-1 ile indüklenen endotel hücresi büyümesine ve göçteki artışa aracılık eder (Şekil 4A2)⁴⁸.

Anjiyogenezi tetiklemede NO'yu kullanıyor olması, netrin-1'i büyüme faktörleri de dahil olmak üzere güçlü endotel mitojenler ailesine dahil etmektedir. Bu yolağın keşfi, iskemik koroner arter hastalığında önemli bir terapötik anjiyogenezi perspektifi sunmaktadır. Yakın tarihli bir çalışma ile netrin-1 ekspresyonunun endotel hücrelerin apoptozunu azalttığı ve iskemi-reperfüzyon hasarını azaltma amacıyla kan damarları yoğunluğunu arttırdığı gösterilmiştir⁴⁹. Yetişkin farelerin beyinlerinin incelendiği bir çalışmada, netrin-1'in fokal neovaskülarizasyonu arttırdığı, infarkt boyutunu azalttığı ve geçici fokal serebral iskemisi sonrası uzun süreli fonksiyonel iyileşmeye katkıda bulunduğu gösterilmiştir⁵⁰. Tüm bu verileri birlikte değerlendirdiğimizde, netrin-1'in inme tedavisi için inovatif bir ajan olduğu söylenebilir.

Bu çalışmaların sonuçlarıyla tezat oluşturacak şekilde yayınlanmış farklı çalışmalar da literatürde yer almaktadır. Netrin-1'in endotel sağkalımını arttırdığı ayrı bir etki biçimi de kemorepulsif netrin-1 reseptörü, UNC5B'yi içerir. Bağlanmamış haliyle, UNC5B, endotel hücreleri üzerinde apoptotik etki gösterir. Netrin-1, UNC5B'ye bağlanarak endotel hücrelerinin hayatta kalmasını sağlamasına rağmen, UNC5B reseptörünün netrin-1 ile etkileşiminin, endotel

hücre göçü üzerinde engelleyici bir etkiye sahip olduğu ve dolayısıyla anti-anjiyogenik etkisinin olduğu da rapor edilmiştir⁵¹. Lu ve ark. endotelial uç hücreleri de dahil olmak üzere fare embriyolarının sinir dokusu boyunca kan damarları geliştirerek UNC5B'nin kuvvetli bir şekilde ifade edildiğini göstermiştir⁵². Diğer bazı çalışmalara göre, endotelial uç hücrelerinde, netrin-1'inde bağlanabileceği anjiyogenezi inhibe eden UNC5b ekspresyonu da gerçekleşmektedir^{53,54}. Birbiriyle çelişen bu veriler, netrin-1'in pro-anjiyogenik bir ajan mı yoksa anti-anjiyogenik bir ajan mı olduğu konusunda çelişiklere neden olmaktadır. Netrin-1'in anjiyogeneze üzerine olan bu çift yönlü etkisini Tu ve ark.ları yaptıkları çalışma ile açıklık getirmeye çalışmışlardır. Buna göre netrin-1'in endotelial hücre proliferasyonu, göçü ve tüp formasyonu üzerine olan *in vitro* uyarıcı etkilerine, pro-anjiyogenik CD146 adhezyon molekülü aracılık etmektedir. Bu molekül, netrin-1 klasik reseptörü UNC5B'ye olan ilgisinden daha fazla bir ilgi ile CD146'ya bağlanmaktadır. Netrin-1, düşük konsantrasyonlarda (50-200 ng / mL) VEGF endotelial reseptörüne (VEGFR2) ko-reseptör olan CD146'nın uyarılmasını sağlayarak anjiyogeneze aracılık eden VEGF sinyalizasyon yolağını tetiklerken, yüksek konsantrasyonlarda (1000–2000 ng/mL) ise anti-anjiyogenik etkilerin oluşmasına neden olan UNC5B aktivasyonunu sağlar⁵⁵.

Aterosklerozda Netrin-1

Ateroskleroz, arteriyel plaklarda makrofajlarakolesterol yüklenmesinin sürekliliğiyle karakterize kronik inflamatuvar bir hastalıktır⁵⁶. Arteriyel inflamasyon, plazma düşük yoğunluklu lipoprotein subendotelial tutulumu ile başlar ve bu lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonu ile şiddetlenir. Şiddetlenen oksidatif modifikasyon beraberinde lezyon bölgesine monosit akımını tetikler⁵⁷. Diğer inflamatuvar süreçlerden farklı olarak, aterosklerotik inflamasyon kolaylıkla çözülemez ve kolesterol yüklü makrofaj oluşumu arteriyel duvarda süreklilik gösterir. Köpük hücrelerinin ana kaynağı olarak da bilinen bu makrofajlar, daha fazla lökosit ve vasküler düz kas hücrelerinin plağa birikmesiyle plağın genişlemesine neden olur ve ekstrasellüler matriks bozucu proteazların ve sitotoksik faktörlerin salgılanması yoluyla plak kararsızlığına belirgin katkıda bulunur. Özellikle, klinik olaylara neden olan aterosklerotik plakların, yüksek makrofaj içeriği ile karakterize olduğu gösterilmiştir⁵⁸. Akut inflamasyonun çözülebilmesi için, monosit türevi hücreler inflamatuvar bölgeye yakınlenfatik damarlar aracılığıyla uzaklaştırılır⁵⁹. Oysa, aterosklerozda bu süreç makrofajların kolesterolle yüklenmiş olmasından dolayı bozulmaktadır⁶⁰. Transplante farelerle yapılan aterosklerotik regresyon çalışmalarıyla, plazma HDL düzeylerinin yükselmesinin ya da plazma HDL dışındaki lipoproteinlerin düzeylerinin azalmasının makrofajların lezyondan, bölgesel ya da sistemik lenf nodlarına göçünü artırdığı gösterilmiştir⁶¹⁻⁶³. Bu veriler,

hiperkolesterolemi söz konusuken plaktan makrofaj göçünün inhibe olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarla netrin-1'in monosit, nötrofil ve lenfosit göçünü reseptörü UNC5b aracılığıyla inhibe ettiği gösterilmiştir⁶⁴⁻⁶⁶.

Son dönemde literatüre *in vivo*, *in vitro* ve aterosklerotik lezyon bölgesi çalışmaları ile makrofaj köpük hücrelerinin netrin-1 eksprese ettiğinin de eklenmesi daha önceki çalışmaları destekler durumdadır⁶⁷. Bu çalışmalara göre, köpük hücreden eksprese edilen netrin-1, ateromdaki hücresel içeriğin farklılaşmasına neden olmaktadır. Netrin-1, sadece makrofaj göçüne engel olmakla kalmayıp, koroner arter düz kas hücrelerinin kemoatraksiyonuna da destek olmaktadır (Şekil 4B)⁴⁸. Bu çalışmalara dair verilere dayanarak, plaktaki netrin-1 ekspresyonunun, eş zamanlı olarak, inflamatuvar hücre çıkışını önlediği ve intima içine düz kas hücre girişini indüklediği ve böylece lezyon ilerlemesine katkıda bulunduğu öngörülmektedir. Aynı çalışmacılar, hipotezlerini desteklemek üzere farelerle gerçekleştirdikleri çalışmada, netrin-1 delesyonlu myeloid hücrelerdeki aterosklerotik lezyonunun hem büyüklüğünün hem de karmaşıklığının ciddi derecede azaldığını göstermiş, plaktan makrofaj göçüyle de ilişkili olduğunu bildirmişlerdir^{67,68}.

Aterosklerotik plakta eksprese olan netrin-1 ve reseptörü UNC5b'nin moleküler mekanizması yeni tarihli bir diğer çalışma ile de gösterilmiştir. Hipoksi ile kronik inflamasyon arasındaki ilişki bilinmektedir. Hipoksik koşullar altında, hipoksi ile indüklenebilir transkripsiyon faktörü-1α'nin (HIF-1α), netrin-1 ve UNC5b ekspresyonunu indükleyerek, hem makrofaj göçüne engel olma hem de lezyonel makrofajların sağ kalımlarını artırma ve bu mekanizmalar aracılığıyla inflamasyonun devamlılığına neden olmaktadır⁶⁹. Tüm bu çalışmalarla araştırmacıların ateroskleroz için netrin-1 adında yeni bir "suçlu" keşfettiği söylenebilir. Bu suçlu, ateroskleroz ve diğer kardiyovasküler hastalıkların etyolojisinde oynadığı rollerin açığa çıkarılmasıyla, gelecekte bu hastalıklara terapötik müdahalede kullanılacak kuvvetli adaylardan biri haline gelmiştir. Kardiyovasküler hastalıkların dünya genelinde önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu düşünülürse, ölümcül kardiyak olayların oluşumunu azaltmak adına büyük vaatler sunmaktadır.

İskemi-reperfüzyon hasarlarında Netrin-1

Riskli miyokarttaki infarkt boyutunun küçülmesinde ve ST-segment elevasyonlu hastaların iyileştirilmesinde en etkili tedavi reperfüzyon terapisi olmasına rağmen, koroner kan akımının restorasyonunun paradoksal biçimde ek bir miyokart hasarını indükleyebilme ihtimali reperfüzyon terapisini iki ucu keskin bir bıçağa çevirmektedir⁷⁰. Oksidatif stres, intraselüler kalsiyum birikimi, hızlı pH restorasyonu ve inflamasyon gibi birçok faktörün rol oynadığı

kompleks bir olgu olan reperfüzyon hasarimitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin (MPTP, mitochondrial permeability transition pore) en azından kısmen açılmasına neden olur^{71,72}.

Reperfüzyon hasarı klinik olarak, aritmiler ya da miyokardial stunningde görüldüğü gibi geçici ve geri dönüşümlü olabileceği gibi, miyokard infarktı ya da mikrovasküler obstrüksiyonda görüldüğü gibi geri dönüşümsüz de olabilir⁷³. Netrin-1, kalbi iskemi-reperfüzyon hasarından iki ayrı mekanizma ile korur. Bunlardan ilki, kardiyak endotelial hücre ve miyositlerden apoptoz ve infarkt büyüklüğünü azaltacak NO'nun üretimini uyarmaktır. Bu güçlü etki, her iki hücre tipinde, anjiyogenezde de etkili olan DCC/ERK1/2/eNOS(s1177)/NO/DCC ileri beslemeli mekanizması ile gerçekleşir^{47,74}. Netrin-1 tarafından aktive edilen DCC, önce ERK1/2 inaktivasyonunu ve hemen ardından kardiyak endotelial hücreler ve miyositlerde serin 1177 fosforile eNOS'tan, NO üretimini tetikler. Üretilen NO da, DCC ekspresyonunu upregüle ederek bir ileri-beslemeli döngü ile DCC aktivasyonunu ve sonuçta daha fazla NO üretimini sağlar. İnfarkt boyutu ve kardiyak hücre apoptozunun belirgin olarak azalmasının altında yatan neden bu şekilde sürekli üretimi sağlanan NO'dur (Şekil4 A1)⁴⁸. Mekanizmaların ikincisi ise NADPH oksidaz 4 ekspresyonunun azaltılması ile mitokondriyal fonksiyonu geliştirecek ve iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu oluşan infarkt boyutunu azaltacak olan NOS fonksiyonlarının iyileştirilmesidir. Bu yolak, düzenlenmesi için netrin-1 gereken oksidatif stres yolağıdır⁷⁵.

Netrin-1düzenleyici bir ajan olarak da umut vaat etmektedir. Hayvanlarla gerçekleştirilen bir çalışmada netrin-1 uygulanmasının miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu rollerini ve infarkt boyutunu azaltıcı etkilerini NO biyoyararlığını artırarak gerçekleştirdiği gösterilmiştir⁷⁶. Netrin-1 perfüzyonu koroner restenozisi NO üretimi ile inhibe etmektedir⁷⁴. Netrin-1 gerek pro-anjiyogenik ve gerekse kardiyomiyosit apoptozu azaltıcı etkileri ile iskemi-reperfüzyon hasarını azaltarak kalp fonksiyonlarını korumaya aracılık etmektedir⁴⁹. Tüm bu verileri birlikte değerlendirdiğimizde, miyokardiyal infarktüsün akut tedavisinde, netrin-1'in inovatif ve güçlü bir ajan aday olduğunu söyleyebiliriz.

Sonuç

Temel olarak sinir sisteminde embriyogenez esnasında oynadığı akson rehberliği ve hücre göçü rollerine ek olarak, diğer sistemlerde de rol alması netrin-1'i onkoloji, nefroloji ve kardiyoloji gibi sağlık alanları için önemli bir protein haline getirmektedir. Kardiyoloji alanında netrin-1, anjiyogenezde yer alır, ateroskleroz oluşumunu teşvik eder ve kalbi iskemi-reperfüzyon hasarına karşı korur. Bu proteine olan ilginin altında, hem pro- hem de anti-anjiyogenik bir ajan olması;

dolayısıyla hem kardiyoprotektif hem de aterojenik bir faktör olması yatmaktadır. Gerçek ve önemli terapötik perspektifler sunabilen bir protein olmasına rağmen bu iki ucu keskin bir bıçak gibi olması nedeniyle en önemli karar tedavide her bir hasta için hangi uygulamanın en faydalı olacağını belirleyebilmektir.

Kaynaklar

1. Layne K, Ferro A, Passacuale G. Netrin-1 as a novel therapeutic target in cardiovascular disease: to activate or inhibit? *Cardiovasc Res.* 2015;107:410-9.
2. Rajasekharan S, Kennedy TE. The netrin protein family. *Genome Biol.* 2009;10:239.
3. Moore KJ, Fisher EA. Macrophages, atherosclerosis and the potential of netrin-1 as a novel target for future therapeutic intervention. *Future Cardiol.* 2012;8:349-52.
4. Serafini T, Kennedy TE, Galko MJ, Mirzayan C, Jessell TM, Tessier-Lavigne M. The netrins define a family of axon outgrowth-promoting proteins homologous to *C. elegans* UNC-6. *Cell.* 1994;78:409-24.
5. Wang H, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Tessier-Lavigne M. Netrin-3, a mouse homolog of human NTN2L, is highly expressed in sensory ganglia and shows differential binding to netrin receptors. *J Neurosci.* 1999;19:4938-47.
6. Yin Y, Sanes JR, Miner JH. Identification and expression of mouse netrin-4. *MechDev.* 2000;96:115-9.
7. Bányai L, Patthy L. The NTR module domains of netrins secreted frizzled related proteins and type I procollagen C-proteinase enhancer protein are homologous with tissue inhibitors of metalloproteases. *Protein Sci.* 1999;8:1636-42.
8. de Wit J, Verhaagen J. Proteoglycans as modulators of axon guidance cue function. *Adv Exp Med Biol.* 2007;600:73-89.
9. Barclay AN. Membrane proteins with immunoglobulin-like domains - a master superfamily of interaction molecules. *Semin Immunol.* 2003;15:215-23.
10. Moore SW, Tessier-Lavigne M, Kennedy TE. Netrins and their receptors. *Adv Exp Med Biol.* 2007;621:17-31.
11. Lai Wing Sun K, Correia JP, Kennedy TE. Netrins: versatile extracellular cues with diverse functions. *Development.* 2011;138:2153-69.
12. Keino-Masu K, Masu M, Hinck L, Leonardo ED et al. Deleted in Colorectal Cancer (DCC) encodes a netrin receptor. *Cell.* 1996;87:175-85.
13. Hong K, Hinck L, Nishiyama M, Poo MM, Tessier-Lavigne M, Stein E. A ligand-gated association between cytoplasmic domains of UNC5 and DCC family receptors converts netrin-induced growth cone attraction to repulsion. *Cell.* 1999;97:927-41.
14. Barallobre MJ, Pascual M, Del Río JA, Soriano E. The Netrin family of guidance factors: emphasis on

- Netrin-1 signalling. *Brain Res Brain Res Rev.* 2005;49:22-47.
15. Ly A, Nikolaev A, Suresh G, Zheng Y, Tessier-Lavigne M, Stein E. DSCAM is a netrin receptor that collaborates with DCC in mediating turning responses to netrin-1. *Cell.* 2008;133:1241-54.
 16. Stanco A, Szekeres C, Patel N, Rao S, Campbell K, Kreidberg JA et al. Netrin-1- α 3/31 integrin interactions regulate the migration of interneurons through the cortical marginal zone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2009;106: 7595-7600.
 17. Yebra M, Montgomery AM, Diaferia GR, Kaido T, Silletti S, Perez B et al. Recognition of the neural chemoattractant Netrin-1 by integrins α 6 β 4 and α 3 β 1 regulates epithelial cell adhesion and migration. *Dev Cell.* 2003;5:695-707.
 18. Haddick PC, Tom I, Luis E, Quiñones G, Wranik BJ, Ramani SR et al. Defining the ligand specificity of the deleted in colorectal cancer (DCC) receptor. *PLoS One.* 2014;9:e84823.
 19. Stein E, Zou Y, Poo M, Tessier-Lavigne M. Binding of DCC by netrin-1 to mediate axon guidance independent of adenosine A2B receptor activation. *Science.* 2001;291:1976-82.
 20. Geisbrecht BV, Dowd KA, Barfield RW, Longo PA, Leahy DJ. Netrin binds discrete subdomains of DCC and UNC5 and mediates interactions between DCC and heparin. *J Biol Chem.* 2003;278:32561-8.
 21. Kruger RP, Lee J, Li W, Guan KL. Mapping netrin receptor binding reveals domains of Unc5 regulating its tyrosine phosphorylation. *J Neurosci.* 2004;24:10826-34.
 22. Leonardo ED, Hinck L, Masu M, Keino-Masu K, Ackerman SL, Tessier-Lavigne M. Vertebrate homologues of *C. Elegans* UNC-5 are candidate netrin receptors. *Nature.* 1997;386:833-8.
 23. Zhong Y, Takemoto M, Fukuda T, Hattori Y, Murakami F, Nakajima D. et al. Identification of the genes that are expressed in the upper layers of the neocortex. *Cereb Cortex.* 2004;14:1144-52.
 24. Hofmann K, Tschopp J. The death domain motif found in Fas (Apo-1) and TNF receptor is present in proteins involved in apoptosis and axonal guidance. *FEBS Lett.* 1995;371:321-3.
 25. Yamakawa K, Huot YK, Haendelt MA, Hubert R, Chen XN, Lyons GE et al. DSCAM: a novel member of the immunoglobulin superfamily maps in a Down syndrome region and is involved in the development of the nervous system. *Hum Mol Genet.* 1998;7:227-37.
 26. Andrews GL, Tanglao S, Farmer WT, Morin S, Brotman S, Berberoglu MA et al. Dscam guides embryonic axons by Netrin-independent and -independent functions. *Development.* 2008;135: 3839-48.
 27. Hoang S, Liauw J, Choi M, Choi M, Guzman RG, Steinberg GK. Netrin-4 enhances angiogenesis and neurologic outcome after cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009;29:385-97.
 28. Nacht M, St Martin TB, Byrne A, Klinger KW, Teicher BA, Madden SL et al. Netrin-4 regulates angiogenic responses and tumor cell growth. *Exp Cell Res.* 2009;315:784-94.
 29. Baker KA, Moore SW, Jarjour AA, Kennedy TE. When a diffusible axon guidance cue stops diffusing: roles for netrins in adhesion and morphogenesis. *Curr Opin Neurobiol.* 2006;16:529-34.
 30. Ranganathan P, Mohamed R, Jayakumar C, Ramesh G. Guidance cue netrin-1 and the regulation of

- inflammation in acute and chronic kidney disease. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:525891.
31. Bredesen DE, Mehlen P, Rabizadeh S. Apoptosis and dependence receptors: a molecular basis for cellular addiction. *Physiol Rev.* 2004;84:411-30.
 32. Guenebeaud C, Goldschneider D, Castets M, Guix C, Chazot G, Delloye-Bourgeois C et al. The dependence receptor UNC5H2/B triggers apoptosis via PP2A-mediated dephosphorylation of DAP kinase. *Mol Cell.* 2010;40:863-76.
 33. Lin JC, Ho WH, Gurney A, Rosenthal A. The netrin-G1 ligand NGL-1 promotes the outgrowth of thalamocortical axons. *Nat Neurosci.* 2003;6:1270-6.
 34. Jarjour AA, Bull SJ, Almasieh M, Rajasekharan S, Baker KA, Mui J et al. Maintenance of axo-oligodendroglial paranodal junctions requires DCC and netrin-1. *J Neurosci.* 2008;28:11003-14.
 35. Alcántara S, Ruiz M, De Castro F, Soriano E, Sotelo C. Netrin 1 acts as an attractive or as a repulsive cue for distinct migrating neurons during the development of the cerebellar system. *Development.* 2000;127:1359-72.
 36. Mehlen P, Furne C. Netrin-1: when a neuronal guidance cue turns out to be a regulator of tumorigenesis. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62:2599–2616.
 37. Arakawa H. Netrin-1 and its receptors in tumorigenesis. *Nat Rev Cancer.* 2004;4:978–87.
 38. Ramesh G, Berg A, Jayakumar C. Plasma netrin-1 is a diagnostic biomarker of human cancers. *Biomarkers.* 2011;16:172–180.
 39. Lu X, Le Noble F, Yuan L, Jiang Q, De Lafarge B, Sugiyama D et al. The netrin receptor UNC5B mediates guidance events controlling morphogenesis of the vascular system. *Nature.* 2004;432:179–186.
 40. Park KW, Crouse D, Lee M, Karnik SK, Sorensen LK et al. The axonal attractant Netrin-1 is an angiogenic factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:16210–5.
 41. Wang W, Reeves WB, Pays L, Mehlen P, Ramesh G. Netrin-1 Overexpression Protects Kidney from Ischemia Reperfusion Injury by Suppressing Apoptosis. *Am J Pathol.* 2009;175:1010–8.
 42. Ramesh G. Role of Netrin-1 Beyond the Brain: From Biomarker of Tissue Injury to Therapy for Inflammatory Diseases. *Recent Pat Biomark.* 2012;2:202–8.
 43. Bongo JB, Peng DQ. The neuroimmune guidance cue netrin-1: a new therapeutic target in cardiovascular disease. *J Cardiol.* 2014;63:95-8.
 44. Xie H, Zou L, Zhu J, Yang Y. Effects of netrin-1 and netrin-1 knockdown on human umbilical vein endothelial cells and angiogenesis of rat placenta. *Placenta.* 2011;32:546–53.
 45. Castets M, Mehlen P. Netrin-1 role in angiogenesis: to be or not to be a pro-angiogenic factor? *Cell Cycle.* 2010;9:1466-71.
 46. Gerber HP, McMurtrey A, Kowalski J, Yan M, Keyt BA, Dixit V et al. Vascular endothelial growth factor regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. Requirement for Flk-1/KDR activation. *J Biol Chem.* 1998;273:30336–343.
 47. Nguyen A, Cai H. Netrin-1 induces angiogenesis via a DCC-dependent ERK1/2-eNOS feed-forward

- mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:6530–5.
48. Joseph BB, Quan PD. The neuroimmune guidance cue netrin-1: a new therapeutic target in cardiovascular disease. *Am J Cardiovasc Dis*. 2013;3:129–34.
 49. Durrani S, Haider KH, Ahmed RP, Jiang S, Ashraf M. Cytoprotective and pro-angiogenic activity of ex-vivo netrin-1 transgene overexpression protects the heart against ischemia–reperfusion injury. *Stem Cells Dev*. 2012;21:1769–78.
 50. Lu H, Wang Y, He X, Yuan F, Lin X, Xie B et al. Netrin-1 hyperexpression in mouse brain promotes angiogenesis and long-term neurological recovery after transient focal ischemia. *Stroke*. 2012;43:838–43.
 51. Castets M, Coissieux MM, Delloye-Bourgeois C, Bernard L, Delcros JG, Bernet A et al. Inhibition of endothelial cell apoptosis by netrin-1 during angiogenesis. *Dev Cell*. 2009;16:614–20.
 52. Lu X, Le Noble F, Yuan L, Jiang Q, De Lafarge B, Sugiyama D et al. The netrin receptor UNC5B mediates guidance events controlling morphogenesis of the vascular system. *Nature*. 2004;432:179–186.
 53. Larrivée B, Freitas C, Trombe M, Lu X, Delafarge B, Yuan L et al. Activation of the UNC5B receptor by netrin-1 inhibits sprouting angiogenesis. *Genes Dev*. 2007;21:2433–47.
 54. Bouvrée K, Larrivée B, Lu X, Yuan L, DeLafarge B, Freitas C et al. Netrin-1 inhibits sprouting angiogenesis in developing avian embryos. *Dev Biol*. 2008;318:172–83.
 55. Tu T, Zhang C, Yan H, Luo Y, Kong R, Wen P et al. CD146 acts as a novel receptor for netrin-1 in promoting angiogenesis and vascular development. *Cell Res*. 2015;25:275–87.
 56. Russell R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340:115–26.
 57. Moore KJ, Tabas I. Macrophage in the pathogenesis of atherosclerosis. *Cell*. 2011;145:341–55.
 58. Libby P, Aikawa M. Stabilization of atherosclerotic plaques: new mechanisms and clinical targets. *Nat Med*. 2002;8:1257–62.
 59. Bellingan GJ, Caldwell H, Howie SE, Dransfield I, Haslett C. In vivo fate of the inflammatory macrophage during the resolution of inflammation: inflammatory macrophages do not die locally, but emigrate to the draining lymph nodes. *J Immunol*. 1996;157:2577–85.
 60. Randolph GJ. Emigration of monocyte-derived cells to lymph nodes during resolution of inflammation and its failure in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2008;19:462–8.
 61. Rong JX, Li J, Reis ED, Choudhury RP, Dansky HM, Elmalem VI, et al. Elevating high-density lipoprotein cholesterol in apolipoprotein E-deficient mice remodels advanced atherosclerotic lesions by decreasing macrophage and increasing smooth muscle cell content. *Circulation*. 2001;104:2447–52.
 62. Llodrá J, Angeli V, Liu J, Trogan E, Fisher EA, Randolph GJ. Emigration of monocyte-derived cells from atherosclerotic lesions characterizes regressive, but not progressive, plaques. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:11779–84.
 63. Feig JE, Parathath S, Rong JX, Mick SL, Vengrenyuk Y, Grauer L et al. Reversal of hyperlipidemia

- with a genetic switch favorably affectsthe content and inflammatory state of macrophages in atherosclerotic plaques.Circulation. 2011;123:989–98.
64. Ly NP, Komatsuzaki K, Fraser IP, Tseng AA, Prodhan P, Moore KJ et al. Netrin-1 inhibits leukocyte migration in vitro and in vivo. Proc Natl Acad Sci US A. 2005;102:14729–34.
 65. Mirakaj V, Thix CA, Laucher S, Mielke C, Morote-Garcia JC, Schmit MA et al. Netrin-1 dampens pulmonary inflammation during acute lung injury. Am J Respir Crit Care Med. 2010;181:815–24.
 66. Rosenberger P, Schwab JM, Mirakaj V, Masekowsky E, Mager A, Morote-Garcia JC et al. Hypoxia-inducible factor-dependent inductionof netrin-1 dampens inflammation caused by hypoxia. Nat Immunol. 2009;10:195–202.
 67. Van Gils JM, Derby MC, Fernandes LR, Ramkhelawon B, Ray TD, Rayner KJ et al. The neuroimmune guidance cue netrin-1promotes atherosclerosis by inhibiting the emigration of macrophages fromplaques. Nat Immunol. 2012;13:136–43.
 68. Swirski FK, Nahrendor M, Libby P. The ins and outs of inflammatory cells inatheromata. Cell Metab. 2012;15:135–6.
 69. Ramkhelawon B, Yang Y, Van Gils JM, Hewing B, Rayner KJ, Parathath S et al. Hypoxia induces netrin-1 and Unc5bin atherosclerotic plaques: mechanism for macrophage retention and survival.Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2013;33:1180–8.
 70. Prasad A, Stone GW, Holmes DR, Gersh B. Reperfusion injury, microvasculardysfunction, and cardioprotection: the dark side of reperfusion. Circulation. 2009;120:2105–12.
 71. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. N Engl J Med. 2007;357:1121–35.
 72. Kim HK, Kang SW, Jeong SH, Kim N, Ko JH, Bang H, et al. Identification of potential target genesof cardioprotection against ischemia–reperfusion injury by express sequencetags analysis in rat hearts. J Cardiol. 2012;60:98–110.
 73. Thuny F, Lairez O, Roubille F, Mewton N, Rioufol G, Sportouch C et al. Post-conditioning reduces infarct size and edemain patients with ST-segment elevation myocardial infarction. J Am Coll Cadiol. 2012;59:2175–81.
 74. Zhang J, Cai H. Netrin-1 prevents ischemia–reperfusion induced myocardialinfarction via a DCC/ERK1/2/eNOSs1177/NO/DCC feed-forward mechanism. JMol Cell Cardiol. 2010;48:1060–70.
 75. Siu KL, Zhang J, Lotz C, Ping P, Cai HL. Netrin-1 abrogates ischemia–reperfusioninduced cardiac mitochondrial dysfunction via attenuation of NOX4 and NOSuncoupling. Circulation. 2011;124:A16331.
 76. Bouhidel OJ, Cai LH. Postconditioning with netrin-1 protects against myocardialischemia–reperfusion injury via a DCC/ERK1/2/eNOS mechanism. Circulation. 2011;124:A17337.

Correspondence Address / Yazışma Adresi

Nil Doğruer Ünal
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Mersin, Turkey
e-mail: nildogruer@mersin.edu.tr

Geliş tarihi/ Received: 05.02.2018**Kabul tarihi/ Accepted:** 06.03.2018