

KALP YETMEZLİĞİNDE ANJİYOGENEZİS VE GEN TEDAVİSİ

Dr. Şefik GÜRAN (*)

Gülhane Tıp Dergisi 46 (1) : 84 - 87 (2004)

ÖZET

Kardiyovasküler sisteme ait hastalıkların tedavisinde ve kronik kalp yetmezliğinin tedavisindeki gelişmelere rağmen toplumda, yaşlı insan sayısının artması, son yıllarda kalp yetmezliği görülme sıklığını hızla arttırmaktadır. Kalp yetmezliği, konjenital faktörler de dahil olmak üzere, pek çok farklı etyolojik faktörle ortaya çıkmaktadır. Etiyolojide rol alan faktörlere ait moleküler mekanizmalar ortaya kondukça, kalp yetmezliği tedavisinde rolü olacak yeni tedavi yaklaşımları ortaya çıkmaktadır. Damar endotel büyüme faktörü (VEGF) ve HIF 1 bu alanda, faz 2 klinik çalışmaları tamamlanan organizmada yeni damar oluşumu sağlayan (angiogenesis) ajanlardır. Anjiyogenik tedavi ve gen tedavisi ile bu alanda elde edilen sonuçlar ümit vericidir.

Anahtar Kelimeler: Gen tedavisi, anjiyogenezis, VEGF, HIF1.

SUMMARY

Angiogenesis and Gene Therapy in Heart Failure

Despite of the advances in the treatment of cardiovascular diseases and in the treatment of chronic heart failure, ageing of the population cause a rapid increase in the prevalence of chronic heart failure in the population. Several factors have role in the etiology of heart failure including congenital factors. By understanding the molecular mechanisms in the etiology, new powerful agents were found in the treatment of heart failure. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and HIF 1 were the angiogenic factors, used in clinical phase II analyses successfully. The preliminary results in angiogenic therapy and gene therapy in heart failure are hopeful.

Key Words: Gene therapy, angiogenesis, VEGF, HIF1.

(*) GATA Tıbbi Biyoloji ABD.

Reprint Request: Dr. Şefik GÜRAN, GATA Tıbbi Biyoloji ABD.06018 Etilik-Ankara/TÜRKİYE

e-posta : gurans@gata.com.tr

Kabul Tarihi: 05.01.2004

GİRİŞ

Kalbin dokuların metabolik ihtiyacına yetecek ölçüde kan pompalayamaması kalp yetmezliği olarak tanımlanabilir. Kalp yetmezliğinde kalbin, dakikada dokulara verdiği kan miktarı azalabilir, aynı kalabilir veya artabilir. Ancak gönderilen kan miktarı artmış dahi olsa, kan miktarı organizmanın metabolik ihtiyaçlarını karşılamıyorsa kalp yetmezliğinden söz edilebilir (1, 2).

Kalp yetmezliğini oluşturan birçok neden sıralanabilir. Bunlar arasında kalp kası veya pompalama fonksiyonlarının normal olduğu kalp dışı kalp yetmezliği yapan durumlar ilk önemli grubu oluşturur. Bu grup içinde, triküspit veya mitral stenozu gibi dolaşımdaki mekanik engeller, dolaşımın akut glomerülonefrit gibi olaylarda aşırı sıvı yüklenmesine bağlı olarak karşımıza çıkan kalp yetmezlikleri ve normal bir miyokardın akut hipertansiyon krizi gibi bir nedenle, aşırı olarak yüklenmesi durumlarında gözlenen kalp yetmezlikleri vardır. Diğer bir önemli kalp yetmezliğine yol açan neden ise, kalp kasını yoran kalbe ait olaylardır. Bunlar içinde, kalpte basınç yükselmesi yapan aort kapak darlığı veya hipertrofik subaortik stenoz gibi nedenler, kalpte volüm yükselmesi yapan aort veya mitral regürjitasyonu gibi nedenler, kalbin kendine ait kardiyomyopatileri, organizmada yüksek debili dolaşıma neden olan hipertiroidizm sayılabilir. Kalp yetmezliği oluşturan diğer bir önemli grup ise aritmilerdir. Burada ileri derecede taşikardi veya bradikardi kalp yetmezliği oluşturabilir (2).

Kalbi tutan hastalıkların içinde erişkinlerde daha az görülen; ama çocukluk yaş döneminde önemli olan konjenital kalp anomalilerinde de kalp yetmezliği oluşturabilmektedir (3). Amerika Birleşik Devletler'in de yapılan çalışmalarda her 1000 doğumdan 4-10' unda kalbe ait anomali tanımlanmaktadır. Günümüzde bu patolojileri ortaya çıkaran genetik faktörler ile ilgili bilgiler çok azdır (4). İster konjenital olsun, ister farklı nedenlerle daha sonra ortaya çıksın günümüzde normal konvansiyonel tedavilerin yanında kalp yetmezliğinin tedavisinde 3 yeni yaklaşım söz konusudur; a) kalp kasılmasını arttırmak için kullanılan gen tedavi yöntemleri, b) iskeminin tedavisi için anjiyogenik faktörlerin kullanılması, c) haraplan-

miş miyokardın tamirinde embriyonik ve erişkin kök hücrelerinin kullanımı (5). Bu yazıda, bu yaklaşımlarından anjiyogenesis üzerinde durulacak, anjiyogenesisi arttıran faktörler açıklanacak ve buna bağlı oluşturulan gen tedavi protokolleri anlatılacaktır.

Anjiyogenesis Moleküler Biyolojisi:

Anjiyogenesis erişkinde yeni damar oluşumu olarak tanımlanabilir. Vaskülogenez ise, anjiyoblastların veya endotele ait öncü hücrelerin (endothelial progenitor cells) farklanması ile embriyonik dönemde vasküler sistemin oluşmasıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, erişkinde endotele ait kök hücrelerin (endothelial stem cells) damarlanmayı oluşturabildiğini göstermiştir. Bu yeni durum, genellikle tümör oluşumunda karşımıza çıkmakta olup "neoanjiyogenesis" olarak adlandırılmaktadır (6).

Anjiyogenesis, daha önce belirtildiği gibi gereksinim duyulduğunda yeni damar (kapiller) oluşumudur (7). Burada öncelikle damar duvarından dışa doğru uzanan bir yalancı ayak-pseudopod oluşumu, bu bölgeye damar endotelinin göçü ve bu bölgenin damarı oluşturacak bir tüp oluşumuna dönmesidir. Yeni damar oluşumu, damar harabiyeti olan bir bölgede veya yeni damar oluşumuna ihtiyaç olan bölgede damar endoteli tarafından oluşturulmaktadır. Arteriyel bölgede yer alan hücreler, efrin B2 proteinlerini salgılamakta, venöz tarafta bir çeşit tirozin kinaz reseptörü olan Eph-B4 reseptör molekülleri bulunmaktadır. Bu moleküler, mekanizma yeni damar oluşumunda arteriyel ve venöz oluşumun belli bir organizasyonu içinde olmasını sağlamaktadır (7). Gereksinim duyulduğunda yeni damar oluşumu 1-2 gün içinde gerçekleşmektedir. Organizmanın her zaman gereksinim duymadığı bu yeni damar oluşumu (anjiyogenesis), proliferatif retinopati, romatoid artrit, psöriyazis, kanser, yaralanma, lokal hasar, iskemi, lokal irritanlarla etkilenme, enfeksiyon sırasında sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (8). Bu oluşum, çevre dokular tarafından salgılanan faktörlerle kontrol edilir. Çevre dokular tarafından oluşan sinyaller karışık olmakla birlikte, özellikle damar endoteli büyüme faktörü-"vascular endothelial growth factor (VEGF)" ve ondan daha az olmak üzere trombosit köken alan büyüme faktörü-"platelet derived growth factor (PDGF)" önemli rol oynamaktadır. Öncelikle yeni damar oluşumunu arttıran en önemli parametre, dokulara gelen oksijenin azalmasıdır. Oksijenin bir bölgede azalması, gen regülasyon proteini olan "hypoxia-inducible factor 1-(HIF1)" yapısını artırır. Bu protein özellikle, VEGF geninin promotörünü etkileyerek VEGF yapısını artırır. Çevre dokudan salgılanan VEGF bu bölgedeki endotel hücreleri aktive ederek damarlanmayı artırır. HIF1 etkisi sadece VEGF promotörüne değil, burada rolü olan birçok faktör üzerindedir. Yeni damar oluşu-

mu gerçekleşip oksijen konsantrasyonu arttığında HIF1 aktivitesi azalır ve VEGF üretimi azalır (7). Anjiyogenesisde kontrol, çevre dokular tarafından salgılanan faktörlerle düzenlenir ve kontrol edilir. Sonuç olarak anjiyogenesisi aktive edenler faktörler:

1. Damar endoteli büyüme faktörü-(Vascular endothelial growth factor-VEGF): VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve plasentaya ait büyüme faktörü (PGF) bu grup içinde sayılır.
2. Anjiyopoetin: İnsanda bilinen 3 tip anjiyopoetin Ang1, Ang2 ve Ang4 olarak adlandırılır. Bunlar Tie2 tirozin kinaz reseptörlerine bağlanır. Ang1 ve Ang 4 bu reseptörü aktive eder, Ang2 ise aynı reseptörü baskılar.
3. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) [Fibroblast growth factor-2- bFGF ve aFGF]
4. Matriks Metalloproteinazları: Bu grup endopeptidazlar, hücre dışı matrikste ve bazal membranda çeşitli proteinleri parçalar. Bu grup enzimler içinde, en fazla bilinenleri kolagenazlar ve jelatinazlardır.
5. İntegrinler: İntegrinler hücre yüzey reseptörleridir. Hücre içinden dışarı, hücre dışından içeri sinyal taşınımını sağlarlar.
6. Efrinler ve Eph reseptörleri: Efrinler tirozin kinaz reseptörlerine bağlanan ve onları aktive eden yapılardır. Bu yapının aktive ettiği Eph reseptörleri efrin ligantlarını aktive ederler. Bu sinyal iletimi anjiyogenesisde oldukça önemli bir role sahiptir.

Anjiyogenesis oluşumunu baskılayan yapıların en önemlileri trombospondin, anjiyostatin, endostatindir. Bu grup içinde yer alan moleküller özellikle kanser tedavisinde yeni ilaçlar olarak denenmektedir. Anjiyogenesisi aktive eden ve baskılayan yapılar organizmada bir denge ve uyum içinde çalışırlar (9, 10).

Anjiyogenesisi aktive eden faktörler arasında yer alan VEGF-A'nın rolü önemlidir. 6 numaralı kromozomdan kodlanan VEGF-A alternatif splicing ile 121 ve 206 arasında değişen 5 farklı amino asidi kodlamaktadır. VEGF-A'nın yapısını oksijen yokluğu kontrol etmektedir. Hipokside HIF 1 VEGF-A'nın promotörüne bağlanmakta ve yapısını arttırmaktadır. Sitoplazmada VEGF-A'nın m-RNA'nın bloke edilmesi, bazı sitokinler, hormonlar ve büyüme faktörleri (örneğin epidermal büyüme faktörü, transforme edici büyüme faktörü b, keratinosit büyüme faktörü, interlekin 1 b, prostoglandin E2 gibi) de VEGF-A'nın yapısını arttırmaktadır. Bu molekül anjiyogenesisi damar endotel hücreleri ve dolaşımdaki monositleri aktifleyerek artırır. Aynı zamanda hücrelerde anti-apoptotik proteinler olan bcl2 ve A1 oluşumunu indükler ve endotel hücrelerin uzun süreli yaşamalarını sağlar. Monositlerin endotele benzer hücrelere dönüşümünü engeller (9, 11, 12).

Oksijenin yaşam için gerekli olduğu organizmalarda, hipoksiye karşı fizyolojik adaptasyon-uyum şarttır. İnsanların da içinde olduğu memeli canlılarda, vazodilatasyon, anjiyogenezis, glukoz taşınımının artması, glukolizin (glukoz yıkımı) artması ve apoptozis aktive edilir (11). Tümör tedavisinde, tümör kan akımının antianjiyogenezis ile azaltılması sonucu tümör hücreleri kronik hipoksiye karşı dirençli hale gelmektedir. Bu durumda, hipoksi ile uyarılabilen sinyal yolağının, kronik hipoksiye karşı edinilmiş toleransı geliştirdiği bulunmuştur. Bunu kontrol eden (apoptozisi etkileyerek ve VEGF gen regülasyonunu düzenleyerek) HIF1 α dır (13, 14).

Embriyoda damar sisteminin gelişmesi (vasculogenesis), endotel progenitor hücreler veya anjiyoblastların farklılaşması ile ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda endotel kök hücrelerin erişkinlerde de bulunduğu ve bu hücrelerin normalde veya gereksinim olduğunda (miyokard enfarktüsünde iskemi rejenerasyonunda veya tümör neoanjiyogenezisinde) aktif olarak rol aldığını ortaya konmuştur. Bu bulgu anjiyogeneziste kök hücrelerin kullanımını olanaklı kılmıştır (15, 16, 17).

Kalp Yetmezliğinde Gen Tedavisi: Damar sertliği ve endotel hücrelerinin fonksiyon bozukluklarından dolayı angiogenezisin tam oluşmaması, iskemik kalp hastalıklarında önemli fizyopatolojik nedenlerdir (18). Anjiyogenezisin oluş mekanizmasının ortaya konması, diğer fizyopatolojik anormalliklere ait moleküler mekanizmaların açıklanmaya başlanması ve bunların gen düzeyindeki anormalliklerinin gösterilmesi geliştirilen gen tedavi yöntemleri sayesinde hedefe yönelik ve kalıcı çözüm sağlayabilecek gen tedavi protokollerinin oluşmasını sağlamaktadır (19).

Gen tedavisi, günümüzde gelişen rekombinant DNA teknolojisi aracılığı ile uygulama alanına giren bir tedavi yöntemidir. Hücrede eksik olan veya fonksiyonuna ait bir anomali bulunan gene ait bir parçanın, uygun bir vektör (taşıyıcı molekül) aracılığı ile hedef hücrelere gönderilmesi, bu tedavinin esasını oluşturmaktadır. Burada taşıyıcı molekül olarak genetik olarak işlenmiş (modified) DNA virusları veya retroviruslar sıklıkla kullanılmaktadır. Aktarılan gen, içine girdiği hücre tarafından kabul edilmekte ve bu gen ürünü (proteini), hücre içinde eksik olan fonksiyonları oluşturulmaya başlanmaktadır (3).

Günümüzde kanser ve bazı genetik hastalıklarda hücrelere, yeni gen aktararak tedavi etme protokolleri, özellikle iskemik kalp hastalıklarında angiogenezisi güçlendirmek ve iyileşmeyi daha çabuk gerçekleştirmek için uygulama alanı da bulmaktadır.

Son yıllarda adenovektörler, bu amaçla sık olarak uygulanmaktadır (20). Tedavide istenen geni içeren (örneğin VEGF geni), vektörün belli bir bölgeye kolayca aktarılabilmesidir. Burada istenilen sürede, istenildiği kadar gen ürününün sentezlenebilmesidir. Vektör ve aktarılan gen organizmada bağışıklık yönünden problem oluşturmamalıdır (20, 21).

Kalp yetmezliğinde etyolojide iyon kanallarına ait anomaliler, hücresel sinyal iletimi ile ilgili bozukluklar, nörohormonal kontrol problemleri, apoptozis mekanizmasına ait anomaliler vardır. Tüm bu etyolojik faktörler tedavide genetik manipülasyona olanak sağlamaktadır. Bu olguların bir kısmında, bu anomaliler aileden herediter olarak aktarılmaktadır. Bu tür ailelerde, tarama yapılarak olabilecek hastalıklara ait aile bireylerinin önceden bilgilendirilmesi sağlanabilir (22). Gen tedavisinde, ayrıca damar endotel faktör ve damar endotelial büyüme faktörü (VEGF) angiogenezisi arttırmak için deneysel çalışmalarda kullanılmakta ve elde edilen sonuçlar umut vermektedir (23). Deneysel çalışmalarda VEGF geni, aktarıldığı bölgede perfüzyonu arttırmakta iskemiye azaltmaktadır. Bu konuda yapılmış birçok prelinik faz I ve faz II çalışmasında uygulanan tedavi protokolünün, iskemik kalp hastalıklarında güvenli ve tedavi edici yönünün yüksek olduğu bulunmuştur (21, 24).

"Hypoxia Responsive Element-HRE" aktarılmış adenovirus vektörünün damar endotel büyüme faktörü-VEGF ekspresyonunu (sentezlenmesini) arttırdığı da rapor edilmektedir (25). Özellikle son yıllarda, sık kullanılan bir viral vektör olan adenoviruslarla yapılmış SERC2A (Sarkoplazmik retikulum Ca²⁺ ATP'ase) gen transferi kalp yetmezlikli hastalarda kalsiyum metabolizmasını düzenleyerek önemli sonuçlar elde edilmesine yardımcı olmuştur (26, 27). SERC2A ekspresyonunun artması, hayvan modellerinde kalp yetmezliğini düzeltme yönünde fonksiyon göstermiştir. Burada, E1 gen delesyonu ile replikasyon yeteneği önlenmiştir (26). Angiogeneziste kilit mekanizmalara ait gen, tedavi protokollerinin belirlenmesinde angiogenezisin fizyolojisinin ve moleküler biyolojisinin daha iyi anlaşılması gereklidir. Örneğin, hepatosit büyüme faktörünün deneysel çalışmalarda anjiyogenezisi arttırdığı, antiapoptotik etki yaptığı antifibrotik etki yaptığı gösterilmiştir (28).

Bu yolda olan gelişmeler, dünyada olduğu kadar yurdumuzda da, ölümlerin önemli bir nedeni olarak karşımıza çıkan kalp yetmezliklerinin tedavisinde önemli bir çığır açacaktır. (10).

Acknowledgement (Bilgi Notu): Bu yazı Kalp Yetmezliği Grubu Yıllık Toplantısında (1-3 Mayıs 2003) sözlü sunum olarak sunulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Fishman, A.P.: Cardiovascular disease (in) Cecil Textbook of medicine (eds) Beeson PB, Mc Dermott W, Wyngardeen JB: 15th Ed. WB Saunders Co. Philadelphia. 1979, pp. 1080.
2. Sanal, A.: Kalp yetmezliği In: Kardiyoloji. 3th Edition . Türk Tarih Kurumu Basımevi. Ankara 1987, pp 257-276.
3. Francis, S.C., Katovich, M.S., Gelband, C.H., Raizado, M.R.: Gene therapy in cardiovascular disease, Current status. Am J. Pharmacogenomics. 2001: 1(1); 55-56.
4. Benson, D.W.: The genetics of congenital heart disease: A point in the revolution. Cardiol Clin 2002; 20; 385-394.
5. Graham, R.M., Bishopric, N.H., Webster, K.A.: Gene and cell therapy for heart disease. IUBMB life 2002; 54 (2); 59-66.
6. Moore, M.A.S.: Putting the neo into neoangiogenesis. J. Clin. Invest. 2002 : 109; 313-315.
7. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (in) Histology : The lives and deaths of cells in tissues (eds): Molecular Biology of the Cell. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P Forth Ed. Garland Science, Philadelphia, 2002, pp 1259-1312.
8. Risannen, T.T., Markannen, J.E., Gruchala, M., Heikura, T., Puranen, M.I., Kholova, I., Kauppinen, R.A., Achen, M.G., Stacker, S.A., Alitalo, K., Ylä-Hertuala, S.: VEGF-D is the strongest angiogenic and lymphangiogenic effector among VEGFs Delivered into skeletal muscle adenovirues. Circ Res 2003; 24; 223-229.
9. Rosen, S.L. : Inhibitors of the vascular endothelial growth factor receptor. Heamatol Oncol Clin N Am. 2002; 16; 1173-1187.
10. Shan, N.G., D' Amore, P.A.: Therapeutic angiogenesis for cardiovascular disease. Curr Control Trials Cardiovasc. Med. 2001; 2(6); 278-285.
11. Jain, R.K.: Tumor angiogenesis and accessibility: Role of vascular Endothelial Growth Factor. Seminars in Oncology, 2002; 29(6) Suppl. 16; 3-9.
12. Ferrara, N.: Role of Vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: Therapeutic Implications. Seminars in Oncology, 2002; Vol 29 (6) Suppl 16; 10-14.
13. Carmeliet, P., Dor, Y., Jherbert, J.M. et al: Role of HIF1 alfa in hypoxa- mediated apoptosis, cell proliferation and tumor angiogenesis. Nature, 1998: 394; 485-490.
14. Communal, C., Sumandea, M., Tombe, P., Narula, J., Solaro, R.J., Hajjar, R.J.: Functional consequences of caspase activation in cardiac myocytes. PROC. Natl. Acad. Of Sci. 2002: 99 (9); 6252-6256.
15. Kaban, K., Herbst, R.S.: Angiogenesis as a target for cancer therapy. Heamatol. Oncol. Clin. N. Am. 2002; 16; 1125-1171.
17. Güran, Ş.: İnsan genom projesi, dünü, bugünü ve yarını. Gülhane Tıp Dergisi 2001: 43 (4); 440-443.
18. Draz-Sandoval, L.J., Losardo, D.W.: Gene therapy for cardiovascular angiogenesis. Expert Opin. Biol. Ther. 2003; 3(4); 599-616.
19. Tunçbilek, E., Koç, I.: Consanguineous marriage in Turkey and its impact on fertility and mortality. Ann Hum. Genet, 1994; 58 (Pt 4): 321-329.
20. Nabel, G.J.: Development of optimized vectors for gene therapy. Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1999: 96 (2); 324-326.
21. Hajjar, R.J., Hug, F., Matsui, T., Rosensueing, A.: Genetic editing of dysfunctional myocardium. Med. Clin. North. Am. 2003; 87(2); 553-67.
22. Mac Neil, B.D., Hayase, M., Hajjar, K.J.: Targeting signalling pathways in heart failure by gene transfer. Curr. Atheroscler. Rep. 2003; 5(3); 178-85.
23. Rasmussen, H.S., Rasmussen, C.S., Macko, J.: VEGF gene therapy for coronary artery disease and peripheral vascular disease. Cardiovasc Radiat Med 2002; 3(2); 114-117.
24. Rasmussen, H.S., Rasmussen, C.S., Maco, J.: VEGF gene therapy for coronary artery disease and peripheral vascular disease. Cardiovasc. Radiat Med 2002 3(2); 114-7.
25. Su, H., Arakawa-Hoyt, J., Kan, Y.W.: Adeno-associated viral vector-mediated hypoxia response element-regulated gene expression in mouse ischemic model. Proc. Natl. Acad. Of Sci. 2002: 99 (14); 9480-9485.
26. Miyamoto, M.I., Monte, del F., Schimidt, U., Di Salvo, S., Kang, Z.B., Matsui, T., Guerrero, J.L., Gwathmey, K.J., Rosenzweig, A., Hajjar, R.: Adenoviral gene transfer of SERCA2A improves left-ventricular function in aortic-banded rats in transition to heart failure. Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2000: 97(2); 793-798.
27. Hajar, R.J., Schimidt, U., Matsui, T., Guerrero, J.L., Lee, K.H., Gwathmey, J.K., Deg, W.G., Semigran, M.J., Rosenzweig, A.: Modulation of ventricular function through gene transfer. Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1998: 95(9); 5251-5226.
28. Amet I, Sawa Y, Iwota K, Matsuda H: J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2002: 124(5); 957-63.