

Glokom Patogenezinde Nitrik Oksit ve Endotelin

İnci Koçak-Midillioğlu (*), Ayşe Gül Koçak Altıntaş (*), Sunay Duman (**)

ÖZET

Glokom patogenezindeki üç temel mekanizma olan göz içi basıncının regulasyonu, oküler kan akımının lokal ayarlanması ve apoptozis ile retina ganglion hücre ölümünde, nitrik oksit (NO) ve endotelin rol oynar. Bu inceleme makalesi glokom patogenezinde NO ve endotelinin glokom patogenezindeki rolünü incelemektedir. Burada NO ve endotelinin temel biokimyasal mekanizmaları ve glokomla ilişkisi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Glokom patogenezi, nitrik oksit, endotelin

SUMMARY

Nitric Oxide and Endothelin in the Pathogenesis of Glaucoma

This review article provides an overview of some fundamental aspects of nitric oxide (NO) and endothelin that are involved in regulation of the intraocular pressure, local modulation of ocular blood flow and control of the retinal ganglion cell death by apoptosis. The basic biochemical mechanisms of NO and endothelin in blood vessels and their relation with glaucoma are described.

Key Words: Glaucoma, nitric oxide, endothelin

GİRİŞ

Retina ganglion hücrelerinin aksonlarının yıkımı sonucu gelişen glokom patogenezi için çeşitli hipotezler ortaya atılmıştır. Glokom patogenezindeki üç temel mekanizma olan göz içi basıncının regulasyonu, oküler kan akımının lokal ayarlanması ve apoptozis ile retina ganglion hücre ölümünde, nitrik oksit (NO) ve endotelin rol oynar. Optik sinir başındaki dejenerasans ve nöronal dejenerasyona neden olabilen bu mediatörler incelemesi ile glokom patogenezi aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Bu makalede NO ve endotelinin glokomla ilişkisi incelenmektedir.

Nitrik Oksit

Yüzyıldan fazla bir süredir, koroner arter hastalıklarının tedavisinde kullanılan nitroglicerinin gibi ilaçlardan

açığa çıkan nitrik oksitin (NO) relaks edici etkisi bilinmesine karşılık vasküler endotel hücrelerinin kendilerinin de NO ürettiği ve bununda altındaki düz-kas hücrelerinde lokal relaksasyona neden olduğu yeni fark edilmiştir (1,2).

Hücreler arası mesajlar genellikle hormonlar ve nörotransmitterler olarak bilinen kimyasal haberciler tarafından gerçekleştirilmelerine rağmen hücre içi mesajlar sıklıkla ikinci haberciler tarafından iletilirler (3). Biokimyasal iletişim konusunda, NO ve endotelin yeni identifiye edilmiş ve primer olarak hormonlar ya da nörotransmitterler gibi davranan iki hücresel mediatördürler (1-3). Sıklıkla polipeptit, aminon asid derivativesi ya da steroid olan diğer hormon ve nörotransmitterlerin aksine NO bir inorganik serbest radikal gazdır (N=O). Lipofilik moleküller olan O₂ ve CO₂ gibi NO hücre membranından hızla diffüze olur, veziküller içinde saklanamaz ve

(*) S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Kliniği Uzmanı

(**) S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Kliniği Şefi

Mecmuaya Geliş Tarihi: 21.07.1999

Kabul Tarihi: 02.09.1999

spesifik membran reseptörleri üzerinde rol oynamaz. Bu nedenle, tek bir endotel hücresinde üretilen NO hızla çevre hücelere diffüze ve penetre olur (1-4). Asetil kolin gibi bir agonist tarafından endotel hücresinin membran reseptörünü uyarılması hücre içi kalsiyumun $[Ca^{++}]$ düzeyinin artmasını ve NO üretimindeki temel enzim olan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini aktive edilmesini sağlar (1). Üretilen NO endotel hücresinin altındaki düz kas hücresine diffüzyon olur ve NO sonunda bu kas hücrelerinin gevşemesini sağlayacak olan ikinci mesenjer cGMP'nin üretiminden sorumlu guanilat siklaz (GC) enzimini aktive eder (1,3).

NO oldukça anstabil olduğundan yarılanma ömrünün birkaç saniyedir ve bu nedenle aktivite alanının üretildiği alanın yakınındaki bölge ile sınırlı kalır. Özellikle NO'nin oksijenle reaksiyonundan nitritler ya da nitratlar oluşurken ($O_2+NO \rightarrow NO_3^-/NO_2^-$), hemoglobin gibi heme proteinleriyle olan reaksiyonu sonucu NO ortamdan uzaklaşır. Serbest radikal superoksit anyonlarının varlığında gelişen reaksiyon sonrasında peroksinitrit ve hidroksi radikaller gibi toksik ürünlerin oluşur (3).

NOS'un 3 izoformu izole edilmiştir. Endotel hücrelerinde bulunan NOS' dan (eNOS) başka iki major NOS izoformu daha vardır (Tablo 1) (3,4). Bunlardan biri, nöral NOS (nNOS) olup nonadrenerjik-nonkolinerjik (NANC) vasküler düz kas hücrelerinin gevşemesini ve böylece vasodilatasyonun sağlanmasından sorumlu nöronlarda bulunur (4). eNOS ve nNOS' un her ikisi de yapısaldır, yani bunlar normalde endotel hücrelerine ya da bazı nöronlara özgüdür. Bu eNOS ve nNOS isoformlar birbirlerine benzer, her ikisinde $[Ca^{++}]$ ve kalmodulin bağımlı olup hücre içi kalsiyumundaki artış ile aktive olurlar. Yukarıda bahsedildiği gibi membran reseptörünün

(örg., asetil kolin, bradikinin, histamin) aktivasyonu ile vasküler endotel hücrelerinde hücre içi $[Ca^{++}]$ artışı tetiklenirken, nöronlarda $[Ca^{++}]$ artışı ya sinir impulsu ya da glutamat (Glu) reseptörünün postsinaptik aktivasyonu ile gerçekleşir.

Bazı pre-sinaptik nonadrenerjik-nonkolinerjik (NANC) nöronlarda, aksiyon potansiyelin yayılımı ile bir ekstrasellüler kalsiyum influsuyla nNOS aktivasyonu ve nitrik oksit (NO) üretimi olur. Bazı damarları çevreleyen NANC sinirlerince üretilen NO altındaki vasküler düz kas hücrelerine diffüze olarak guanilat siklazı (GC) aktive ederek cGMP üretimini artırarak vasorelaksasyonu indükler. Diğer bazı nöronlarda, N-metil-D-asparta (NMDA) membran reseptörlerinin glutamat ile aktivasyonu hücre-içi $[Ca^{++}]$ konsantrasyonunu artırır ve NO üretmek için nNOS'u aktive eder.

eNOS ve nNOS'un aksine, indüklenebilir NOS (iNOS) olarak adlandırılan üçüncü major NOS izoformu normal koşullarda hücrede bulunmaz. Sadece sitokinler veya endotoksin gibi bakteri ürünleri ile karşılaşıldığında transkripsiyon ile indüklenir. nNOS retina, santral sinir sistemi gibi nöral dokularda bulunur ayrıca iskelet sistemi, nötrofil ve gastrointestinal sistem epitelinde de bulunur (4). eNOS kan damardaki endotel de ve nonvaskularize hücrelerde bulunur. iNOS primer olarak inflamatuvar proseslerde yer alır. Sitokin ve endotoksinlerle karşılandıktan birkaç saat sonra makrofajlarda ve nötrofillerde yüksek miktarlarda NO üretimi başlar ve bu üretim devam eder. iNOS tarafından üretilen NO inflamasyon ve dejenerasyondaki yıkımda rol oynayan önemli bir elemandır (3,4). Makrofajların sitotoksik aktiviteleri NOS inhibitörleri tarafından bloke edilebilir, ve NO'nin endotoksik şokta gözlenen vasodilatasyonda

Tablo 1. NOS izoformları

İzoenzim	Doku	Regulasyon	Fizyolojik fonksiyon
NOS-I: Nöronal nNOS	Beyin	Kalmodulin ve Kalsiyum	Santral sinir sisteminde sinaptik transmisyonun uzun dönem regulasyonu:periferik NANC nitreerjik sinirler yolu ile santral kan basıncının regulasyonu: düz kas gevşemesi ve vasodilatasyon
NOS-II: İndüklenebilir, iNOS	Makrofaj	Sitokin ve LPS	Makrofajların major sitotoksik etkili fonksiyonu
NOS-III: Endotelial, eNOS	Endotel	Kalmodulin ve Kalsiyum	Kan damarının dilatasyonu; platelet adezyonunun önlenmesi; VSMC'nin proliferasyonunun önlenmesi

büyük rol oynadığı saptanmıştır (3,4). NO nöral dejenerasyona rol açabilir. Primer nöral hücre kültüründe aşırı NO ile glutamatin nörotoksisite geliştirdiği gösterilmiştir (4).

Endotelin

Gevşetici bir ajan NO'in tam aksine endotelin-1 (ET-1) bilinen en potent fizyolojik vasokonstürktördür (5). Endotelin-1 temel olarak endotel hücrelerince üretilirler. Preproendotelin olarak adlandırılan yaklaşık 200 amino asitli bir öncül peptiden gelişir. Bu prekürsör bir endopeptidaz ile daha küçük big endoteline (38 amino asitli peptit) kendisi bölünür. Sonra, endotelin-konverting-enzim (ECE) big endotelini biyolojik olarak aktif olan 21 amino asitli bir peptit olan endoteline böler. Endotelial hücrelerce üretilen endotelinin çoğu abluminaldir. Sadece küçük bir kısmı damar lümeninin içine salınması endotelinin esas olarak lokal etkili olduğunu düşündürür.

Başlıca iki endotelin reseptörü mevcuttur, ET_A ve ET_B. Vasküler düz kas hücrelerinde başlıca ET_A reseptörlerinin stimülasyonu belirgin ve uzamış vasokonstriksiyonu uyarır. Gerçekten, ET_A reseptörlerinin ikinci haberci inositoltrifosfat (IP₃) ve diaçilgliserol oluşumunu indükleyen fosfolipaz C'ye bağlı olduğu gösterilmiştir. Bu habercilerin aktivasyonu hücre içi [Ca⁺⁺] artışına ve uzun kontraksiyonlara neden olur. Endotel hücrelerinde ET_B reseptörleri de mevcuttur. Bazı damarlardaki endotel hücrelerinde ET_B reseptörlerinin stimülasyonu kalsiyum kanallarını açabilir ve buda nitrik oksit sentazın (NOS) nitrik oksit (NO) üretimine ve geçici vasodilatasyona neden olur (3,5,6).

Kornea, iris, silier cisim ve retina mikrovasküler perisitlerinde ET-1'in bağlandığı saptanmıştır. Deney hayvanlarında ET-1'in intravitreal enjeksiyonu retina damarların obstrüksiyonuna neden olur (6).

GLOKOMDA NİTRİK OKSİT ve ENDOTELİN

Glokom göz içi basıncının (GİB) yüksek seviyelerde olması veya vasospastik reaksiyonlarda olduğu gibi kan akımındaki disregülasyon gibi farklı risk faktörleri ile birlikte olan bir optik sinir başının nöropatisidir (7). Endotelial hücrelerden NO üretiminin olmadığı durumlarda vasospastik reaksiyona neden olabilen haller vardır. Membran reseptörünün endotelial aktivasyonu (asetil kolin) hücre içi [Ca⁺⁺] konsantrasyonunu arttırabilir, buda NOS'u aktive eder ve NO üretimi uyarılır, altındaki düz kas hücrelerinde gevşemeye ve vasodilatasyona neden olur.. Normal şartlar altında NO'in gevşetici etkisi asetil kolinin düz kas hücrelerindeki direkt kontrakte

edici etkisinin üstündedir. Endotelial hasar hallerinde, NO'in olmayışı lokalize bir vasospastik reaksiyona neden olabilir (2). Normo tansif glokomlu bireylerde plasma ET-1 seviyesi primer açık açılı glokomlu (PAAG) olgulardan ve normal bireylerden daha fazla bulunmuştur (8). Endotelinin lokal üretimi vasospastik cevaba neden olabilir. Kontraksiyonlar ya endotel hücrelerinin kaldırılması ile ya da ETA reseptör agonistleriyle azaltılabilir. Normo tansif glokomda olduğu gibi oftalmik mikrosirkülasyonda artan vasokonstriksiyon kısmen oftalmik akımın endotel bağımlı oftalmik dolaşımdaki endotelinin vasokonstriksiyon etkisini inhibe ederek glokomatoz harabiyeti engelleyebilir (9).

Aköz damar dışı akımın düzenlenmesinde yer alan trabeküler ağın NO veya endotelin ile gevşeyen ya da kontrakte olan intrinsik kontraktıl elementlerinin mevcuttur. Bu nedenle NO aköz humor dışı akımını arttırabilirdiği ve böylece, GİB'ını düşürdüğü fakat endotelinin GİB'ının artmasında neden olacak dışı akımı azalttığı tahmin edilmektedir (9,10).

Glokomlu hastaların aköz humorlarında endotelinin düzeyi uygun kontrol bireylerinkinden belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu, diğer yandan glokom hastalarının gözlerinde NO üretiminde sorumlu enzim NOS' un belirgin bir şekilde azaldığı histolojik olarak da gösterilebilir (11,12). Bundan dolayı, NO ve endotelin glokomda gözlenen GİB'ının yükselmesinde ya NO üretiminde düşüşle ya da endotelin sekresyonunda aşırı bir artışla direkt olarak bağlantılıdır (3).

İmmun histolojik çalışmalarda normal gözlerin optik sinir başındaki (OSB) astrositlerde nNOS az miktarda mevcutken PAAG 'lu gözlerde nNOS prelaminar bölge ve lamina kribrozada yıpranık sinir liflerinin hemen tüm astrositlerinde yoğun olarak saptanmıştır. ENOS normal bireylerin prelaminar bölgedeki küçük damarlarında bulunurken, glokomlu dokuda astrositler ve büyük ve küçük çaplı damarlarda mevcuttur. Normal dokuda bulunmayan iNOS'un glokomlu gözlerin lamina kribrozasında izlenmesi glokomlu gözlerin aşırı miktarda NO ile karşılaştığını bununda retina ganglion hücrelerine nörotoksik etkisi olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan vaskular endotelde eNOS'nin varlığında vasodilatasyona ve dokuya olan kan akımını arttırarak nöral koruyuculuğa neden olmaktadır (5).

Glokomda gözlenen geri dönüşsüz fonksiyonel görme kaybı, retina ganglion hücrelerinin muhtemelen apoptozisi nedeniyle (7). Apoptozis fazla miktardaki NO'in üretimini stimüle eden N-metil-D-aspartat (NMDA) membran reseptörlerinin glutamat ile aktivasyonu ile indüklendiği gibi mitokondri de serbest radikal üretimi ile de indüklenebilir.

Glokom hastalarının vitreuslarında artmış miktarlarda glutamat ölçülmüştür. Büyük retina ganglion hücrelerinin NMDA- media nörotoksositeye daha hassas olduğu da gösterilmiştir (6).

Sonuç olarak, NO ve endotelinin glokomda rol oynayan, özellikle GİB'ının regülasyonunda, oküler kan akımında, ve apoptozis ile retinal ganglion hücre ölümünde anahtar rolü üstlenen iki mediatördür (6,9). eNOS 'a karşı selektif olarak nNOS, iNOS'u inhibe edebilecek ajanların üretilmesi glokom tedavisinde yararlı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;333:664-666
2. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376
3. Ivan O, Haefliger ve Eike S: Dettmann. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma: An overview. In Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma, Haefliger IO, Flammer J eds. New York: Lippincott- Raven 1997; 22-33
4. Neufeld AH, Hernandez M, Gonzalez M: Nitric oxide synthase in the human glaucomatous optic nerve head. *Arch Ophthalmol* 1997;115:497-503
5. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S et al: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-415
6. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA: Elevated levels in the vitreous body of human and monkey with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1996; 114:299-305
7. Flammer J: To what extent are risk factors involved in the pathogenesis of glaucoma? In *Ocular Blood Flow* Kaiser HJ, Flammer J, Hendrickson Ph eds. Basel. Karger 1996;12-39
8. Kaiser HJ, Flammer J, Wenk M, Lüscher T: Endothelin-1 plasma levels in normal-tension glaucoma: abnormal response to postural changes. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995;233:484-488
9. Meyer P, Flammer J, Lüscher TF: Endothelium-dependent regulation of the ophthalmic microcirculation in the perfused porcine eye: role of nitric oxide and endothelins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:3614-3621
10. Behar-Cohen FF, Goureau O, O'Hermis F, Courrois Y: Decreased intraocular pressure induced by nitric oxide donors is correlated to nitrite production in the rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37:1711-1715
11. Noske W, Hensen J, Wiederholt M: Endothelin-like immunoreactivity in aqueous humor of primary open angle glaucoma and cataract patients. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997;235:551-552
12. Nathanson JA, McKee M: Alteration of ocular nitric oxide synthase in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:1774-1784