

Nitrik Oksit'in Etkileri ve Patolojik Rollerini

Dr. Yusuf Türköz¹, Dr. Elif Özerol¹

Nitrik oksit (NO), ilk kez endotel kaynaklı gevşeme faktörü olarak tanımlanmış ve günümüzde bir çok memeli hücre ve dokularının fonksiyonlarını düzenlediği anlaşılmıştır. NO, argininin nitrik oksit sentetaz (NOS) enzim ailesi tarafından oksitlenmesiyle ya konstitutif (esas) ve kalsiyuma bağımlı ya da indüklenbilir ve kalsiyumdan bağımsız olarak sentezlenir. Endojen olarak üretilen NO; konak savunması ve immüniteyi etkilediği gibi kan damar tonusu ve nöronal ileti dahil birçok fizyolojik olayların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. NO, benzersiz bir biyolojik haberci moleküldür. Sinir sisteminde fizyolojik ve patolojik rolleri vardır. Sinir sistemi morfogenezinde ve sinapsların şekillenmesinde rol oynar, nörotransmitter salınımını ve gen ekspresyonunu düzenleyebilir. NO, aşırı üretilmesi halinde, çeşitli sinir sistemi hastalıklarında önemli bir nörotoksin olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca, bir çok çalışmada NO'in inflamatuvar cevapları modüle etmede kompleks bir rol oynadığı anlaşılmıştır. [Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1997;4(4):453-461]

Anahtar Kelimeler: Nitrik oksit, nitrik oksit sentetaz, NO, NOS, nörotoksin

Nitric oxide : actions and pathological roles

Nitric oxide (NO), first identified as an endothelium-derived relaxation factor (EDRF), is now recognized as a regulator of many mammalian cells and tissue functions. It is synthesized via the oxidation of arginine by a family of nitric oxide synthases (NOS) which are either constitutive and calcium-dependent or inducible and calcium-independent. The endogenous production of NO plays a vital role in regulating physiological processes, e.g., blood vessel tone and neurotransmission, as well as in host defense and immunity. NO is a unique biological messenger molecule. Nitric oxide have physiological and pathophysiological roles in the nervous system. Nitric oxide may regulate neurotransmitter release, and it may play a key role in nervous system morphogenesis and synaptic plasticity and regulate gene expression. Under conditions of excessive formation, nitric oxide is emerging as an important neurotoxin in a variety of disorders of the nervous system. In addition, in many studies it has been found that nitric oxide plays a complex role in modulating the inflammatory response. [Journal of Turgut Özal Medical Center 1997;4(4):453-461]

Key Words: Nitric oxide, nitric oxide synthase, NO, NOS, neurotoxin

15-20 yıl öncesine kadar nitrik oksidin (NO) basit bir atmosfer atığı olduğu düşünülmekteydi. Ancak 1987 yılında, damar endotelinden endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak bilinen yapının izole edilmesi sırasında nitrik oksit sentetaz (NOS) keşfedilmiş ve daha sonraki yıllarda EDRF'nin NO

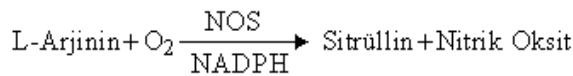
olduğu tespit edilmiştir (1,2). İnsan ve hayvanların da NO üretebildiklerinin ortaya konması ile 1987 yılına kadar insan vücudunda bulunuş nedeni ve metabolizması hakkında çok az şey bilinen NO'in fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü anlaşılmış ve 1992'de yılın molekülü seçilmiştir (1,3).

¹ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Malatya

NO, renksiz bir gazdır. Yüksek konsantrasyondaki NO oksijensiz ortamda oldukça stabil olup suda erime özelliği gösterir iken düşük konsantrasyondaki NO oksijen varlığında dahi stabildir. Havadaki NO, kısa sürede O₂'le oksitlenerek nitrojen dioksit'e dönüşür. Nitrojen dioksit dokular için oldukça zararlı bir bileşiktir. Nitrik oksitin, üzerinde yük taşımaması ve çiftlenmemiş elektron bulundurması, hücreden hücreye hiçbir bariyerle karşılaşmadan kolaylıkla geçmesini sağlamaktadır. Aynı zamanda NO, taşıdığı çiftlenmemiş elektron nedeniyle bir radikal molekül olarak isimlendirilebilir. Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO, bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekülü özelliği kazanmaktadır (4).

Düşük konsantrasyondaki NO, O₂'e nazaran hemoglobine 3000 kat bir affiniteyle bağlanır. Hemoglobin oksijen formunda ise NO'yi kısa sürede nitrate (NO₃) oksitleyerek etkisizleştirir. Özellikle dolaşımdaki oksihemoglobin NO için kuvvetli bir inhibitördür. NO, nitrite de (NO₂) okside olabilir ancak nitrit tekrar oksitlenerek kısa sürede nitrate dönüşüm gösterir (5). NO, diğer serbest radikaller gibi çok kısa yarılanma süresine sahip olup 2-30 saniye içinde daha stabil bir yapı olan nitrate oksitlenir (6,7).

Nitrik oksit sentetaz (NOS) vücudun çok değişik dokularından (damar endoteli, beyin, makrofaj, üriner sistem dokuları vb.) izole edilerek fizikokimyasal ve

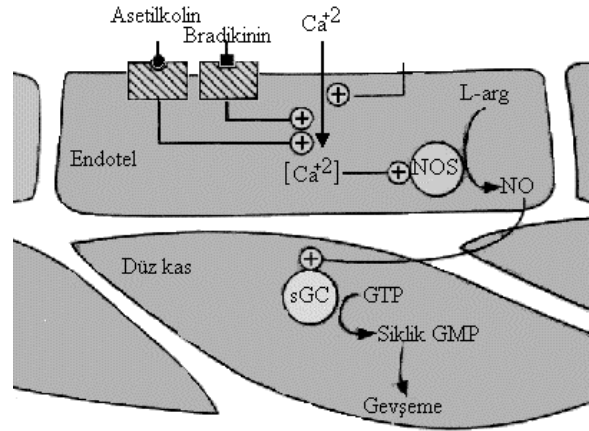


Şekil 1. L-Arjinin-nitrik oksit yolu

kinetik özellikleri incelenmiştir (8-11). NOS'in katalize ettiği biyokimyasal reaksiyon Şekil 1'de gösterilmiştir. Bu reaksiyon aynı zamanda *l-arjinin-nitrik oksit* yolu olarak ta bilinmektedir.

NOS, incelenen fiziko-kimyasal ve kinetik özelliklerine göre iki gruba ayrılmaktadır:

1-Konstitütif nitrik oksit sentetaz (cNOS): Bu izoenzim özellikle damar endoteli, idrar yolu dokuları, periferik ve santral sinir sistemi gibi dokularda lokalize olmuştur. NOS, bu dokularda her zaman mevcuttur, ancak aktif değildir. Hücre içi iyonize Ca⁺⁺



Şekil 2. NOS'un aktive edilmesi ve NO sentezlenmesi

konsantrasyonunun arttığı durumlarda Ca⁺⁺ kalmudolinle birleşerek NOS enzimini aktive eder ve l-arjininden NO sentezi gerçekleşir (Şekil 2). Ancak sentez süresinin çok kısa olması, sentezlenen NO miktarının çok düşük olmasına neden olmaktadır. Çünkü hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonu azalmaya başladığı an enzim inaktif forma geçerek NO sentezi durmaktadır. Enzim, kalsiyum-kalmudolinle aktive olması nedeni ile kalsiyuma bağımlı-NOS veya konstitütif-NOS olarak sınıflandırılmıştır (2,4,10,12).

2-İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS): Bu tip NOS, konstitütif tipin aksine hücre içinde bulunmaz. Özellikle makrofaj (monosit, nötrofil, hepatosit ve diğerleri) ve damar endotel hücrelerinde sentez edilmektedir (4). Bu hücrelerin spesifik sitokinlerle aktivasyonu, NOS'ın indüksiyonu ve NO sentezine yol açmaktadır. Özellikle bakteri lipopolisakaritleri ve interferon-γ veya yüksek konsantrasyonda lipopolisakaritle uyarılan makrofajlar çok miktarda NO üreterek yabancı hücrelerde (bakteri, parazit, tümör hücresi) sitostatik ve/veya sitotoksik etki meydana getirirler (13).

İndüksiyon sonrası NO sentezi saatlerce hatta günlerce devam edebilir. Ancak uzun süreli aşırı miktarda NO sentezi makrofaj ve diğer dokularda da harabiyete yol açar. Enzim indüksiyonu l-arjinin analogları ve glukokortikoidlerce inhibe edilebilmektedir. Bu indüksiyon, nonspesifik hücre immünesi ile ilişkili bir mekanizmayla meydana gelmektedir. Enzim, bilinen bu özelliklerinden dolayı indüklenebilir veya kalsiyumdan bağımsız-NOS olarak isimlendirilmiştir (3,12,14-17).

Birçok hormon ve ilaçlar hücre içi etkilerini hücre yüzeyinde spesifik reseptörlere bağlanarak ve hücre içi siklik AMP konsantrasyonunu artırarak gösterirlerken, NO hücre membranını geçerek demir ve/veya sülfür içeren proteinlere bağlanarak etkisini göstermektedir (9). NO özellikle nöronlar ve damar düz kas hücre membranında bulunan guanilat siklazı aktive eder. Guanilat siklaz ise GTP'den bir ikincil haberci olan siklik GMP (cGMP) oluşumunu artırır. cGMP kendine uyan (kas gevşemesi, sinapstan uyarı geçişi gibi) hücre içi prosesleri regüle eder. Böylece NO, guanilat siklaz aktivitesini etkileyerek damar dilatasyonu, sinirlerden uyarı geçişi gibi fonksiyonları gerçekleştirmektedir (18). Endotel kaynaklı NO, damar düz kaslarının gevşemesini sağlayarak kan akışı ve basıncının ayarlanmasını sağlamaktadır. Bu etki, sistemik dolaşımda meydana geldiği gibi lokal olarak kalp, beyin, karaciğer, gastrointestinal sistemlerde gözlenebilmektedir (4,18).

NO, merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, denge, uyarı geçişi, koku alma gibi birçok fonksiyonları destekleyen bir nörotransmitter olarak fonksiyon göstermekte ve etki etmektedir (19). Periferik sinir sisteminde ise nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinirleri etkileyerek vazodilatasyon, solunum, genitoüriner ve mide barsak fonksiyonlarının regüle edilmesine katkıda bulunmaktadır (20).

Dolaşım sisteminde trombosit agregasyonunun ve adezyonunun engellenmesi, kalp kasılmasının düzenlenmesi gibi olaylara da iştirak etmektedir. NO'nun bu fonksiyonları guanilat siklazın aktivasyonu, hücre içi siklik GMP konsantrasyonunun artışı şeklinde cereyan etmektedir (4,21).

Nitrik oksidin fizyolojik ve patolojik rolü

Kardiovasküler ve pulmoner sistemlerde nitrik oksit:

Endotel kaynaklı gevşeme faktörünün (EDRF), NO olduğu hipotezi sonraki yıllarda yapılan çok sayıda çalışma ile doğrulanmıştır. Özellikle l-arjinin analogları (L-NMA, L-NNA, L-NAME, L-CPA, L-NIO) ve diğer NOS inhibitörleri, enzimi değişik oranlarda inhibe etmektedir. Yapılan inhibisyon denemelerinde endotel kaynaklı NOS'in inhibe edilmesi ile vazokonstriksiyon ve sonuçta hipertansiyon ortaya çıkmaktadır (22-24).

Bu inhibitörlerin insan ve hayvanlara verilmesi, NO sentezini durdurularak veya azaltarak NO'nun gerekli olduğu bütün fonksiyonları tersine

çevirmektedir. Bu durumda insan ve hayvanlarda endotel kaynaklı vazodilatasyon mekanizması inhibe olduğu için hipertansiyon meydana gelmektedir. NO sadece sistemik dolaşımın regülasyonunu sağlamakla kalmaz ayrıca kalp, karaciğer, beyin gibi organlarda lokal dolaşımı da regüle etmektedir (21). Nonkolinerjik ve nonadrenerjik terminallerden salınan NO, vazodilatör etkiyle kan basıncı ve akışını düzenlenmektedir (4,9).

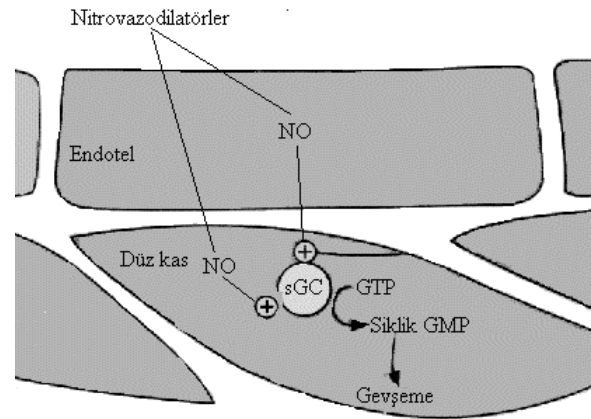
Bu vazodilatasyon mekanizması, dahili bir nitrovazodilatasyon sisteminin varlığını göstermektedir. Çünkü nitrogliserin ve N-nitroprussid gibi nitrobileşikler uzun yıllar kliniklerde hipertansiyonun tedavisinde kullanılmıştır. Vücuda verilen bu maddeler sonuçta NO'e dönüşerek etkilerini göstermektedirler (Şekil 3) (9,25).

Damar endotelinden salınan NO'nun etkisi, damar düz kas hücrelerinde guanilat siklazın aktivasyonu ile başlar, hücre içi siklik guanozin mono fosfat (cGMP) konsantrasyonunun artışı ve düz kasların gevşemesi ile sonlanır (4).

NO, prostasiklinle sinerjistik bir etkileşimle trombosit agregasyonunu ve adezyonunu engellemektedir (26-28). Ayrıca trombositler de NO sentez ederek trombosit aktivasyonunun kontrolüne katkıda bulunmaktadır (29).

Kliniklerde, nitrovazodilatörler (nitrogliserin, N-nitroprussid gibi) ile prostasiklin veya analoglarının kombine edilmesi çok etkili bir antitrombotik tedavi sağlayabilir.

NO'nun çok önemli bir diğer etkisi de lökosit

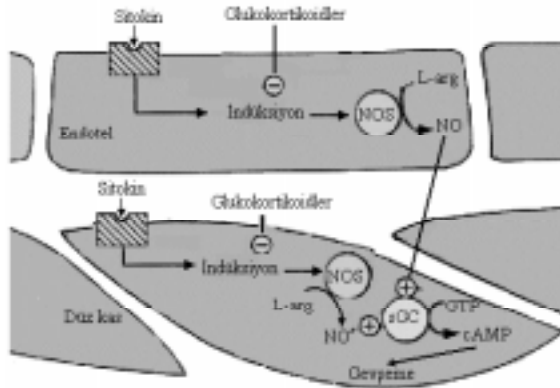


Şekil 3. Nitrobileşiklerinin endotel ve düz kas hücrelerinde NO'e dönüşümü

aktivasyonunu engelleyerek lökositlerin damar duvarıyla karşılıklı etkileşimi engellemesidir (21,30).

NO'in patolojik olarak salınımı:

Damar endoteli ve düz kaslarında bulunan indüklenebilir NOS bazı sitokinler veya sitokin salınımını artıran endotoksin lipopolisakkaritler tarafından indüklenir. Fizyolojik şartlarda sadece konstitutif NOS (cNOS) aktiftir (4). Bu indüksiyon, damar endoteli ve düz kaslarında aynı anda meydana gelmektedir. İndüksiyon sonucu vazodilatasyon meydana gelir. Bu olay vazokonstriktörlere karşı oluşan bir direnç olarak ifade edilebilir. NOS'un indüksiyonu NOS inhibitörleri ve glukokortikosteroidler ile engellenebilir. Bununla ilgili olarak hayvanlarda endotoksik ve septik şokta, NO sentezinin aşırı artışı ve buna bağlı olarak hipotansiyon meydana gelişi örnek verilebilir (21,31). Yine kanserli hastalarda sitokin tedavisi de bu yolla hipotansiyona neden olmaktadır (Şekil 4) (32).



Şekil 4. NOS ve NO'nun indüksiyonunu etkileyen faktörler

Kardiovasküler ve pulmoner sistemlerde NO'nun önemi

Endotelial kaynaklı NO vazodilatasyona neden olmaktadır. Arter endotel dokusu ven endotel dokusuna göre daha fazla NO sentez edebilmekte ve bu nedenle arterlerdeki gevşeme venlerdeki gevşemeden daha fazla olmaktadır. Bu farklılık, özellikle arteriyel veya venöz koroner bypass greftlerini etkileyen önemli bir faktör olup arter greftlerinin ven greftlerine göre daha sık açılmasının nedenini oluşturmaktadır (34).

Arteriosklerotik kalp arteri ile normal kalp arteri endotel kaynaklı gevşeme açısından karşılaştırılırsa, arteriosklerotik damar halkalarında gevşemenin

azaldığı ve vazokonstriktör ajanlara karşı cevabın sıklıkla zayıfladığı tespit edilmektedir (35).

Kan basıncının artışı veya asetilkolin tarafından uyarılan vazodilatasyon; arteriosklerozlu hastalarda, sigara tiryakilerinde ve ailesel yüksek kolesterolü çocuklarda bozulmaktadır (36). Bu hastalara l-arjinin verilmesi vasküler fonksiyon bozukluğunu düzeltebilmektedir (37,38).

Endotel kaynaklı gevşeme, gerçek hipertansiyonlu hastalarda da azalmaktadır (39). Çünkü bu hastalarda NO sentezinin aksaması hipertansiyona sebep olmaktadır (40). Eksperimental çalışmalarda hayvana NOS inhibitörü (L-NMA, L-NAME ve diğerleri) verilmesi hipertansif cevabı artırmaktadır. Bu durumda glomerüler hasar ve sodyum atılımında azalma meydana gelmektedir (41,42). Hipertansiyona meyilli hayvanlara l-arjinin verilmesi hipertansiyon oluşumunu kuvvetle engellemektedir (37,38). Çünkü gerçek hipertansiyonlu ve sağlıklı insanlara l-arjinin enfüzyonu sistolik ve diastolik basıncı kısa sürede düşürmektedir (39). Anjiyotensin-konverting enzim inhibitörleri ile tedavide bradikinin, endotelden NO salınımını stimüle ederek NO konsantrasyonu artırmakta ve vazodilatasyona neden olmaktadır. Endotel kaynaklı gevşemenin, diabetli hayvanların kan damarlarında ve kalp-akciğer transplantasyonu yapılan insanların izole akciğer arterlerinde oldukça azaldığı ve vazokonstriktörlere cevabın zayıfladığı tespit edilmiştir (43).

L-arjinin metil türevleri (L-NMA, L-NAME ve diğerleri) normal şartlarda idrarla vücut dışına atılmaktadır. Bu yapıların plazma düzeyleri akut böbrek yetmezliği olan hastalarda aşırı derecede yükselmektedir (44). Bu inhibitörlerle NO sentezinin inhibisyonu, hipertansiyon ve lökositlerde fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır. NOS'ı l-arjinin metil türevleri dışında, imidazol türevleri ve aminoguanidin gibi kimyasal ajanlar da inhibe etmektedir (45).

Bazı akciğer hastalıklarında hastaya inhalasyonla NO verilmesi pulmoner hipertansiyonu normale çevirebilmektedir (46). 13-36 ppm düzeyinde inhale edilen NO, yetişkinlerde respiratuvar distres sendromunu önlemektedir (47). Akciğer fonksiyonları bozulmuş hastalarda 7 günlük NO tedavisi, solunum fonksiyonlarını normalize etmektedir (48). Bu sonuçlar, NO inhalasyonunun akciğer fonksiyon bozukluklarının düzelmesine yardımcı olduğunu ortaya koymaktadır.

İnhale edilen NO'in, özellikle akciğer alveollerinde kapiller damarları genişlettiği ve ventilasyon/perfüzyon oranını düzelttiği tespit edilmiştir (48). Solunumla alınan NO, sadece akciğerlerde lokal etki göstermekte, sistemik dolaşımında herhangi bir etki meydana getirmemektedir. Normal şartlarda, insanların solunum havası ile 5-20 ppb düzeyinde NO'ü vücut dışına attığı tespit edilmiştir (49).

Sirozun hiperdinamik fazında kanda yüksek konsantrasyonda endotoksin, vazokonstriktörlere karşı cevabın azalması ve aşırı vazodilatasyona neden olmaktadır. Çünkü mevcut endotoksin NOS'ı indükleyerek aşırı NO sentezine yol açar. Sirozda ve özellikle hepato-renal sendromda NO'in oksidasyon ürünleri olan nitrat ve nitritin serum düzeyleri artış göstermektedir. Bu artış, direkt endotoksin konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir (50,51).

NO'in sinir sistemindeki rolü:

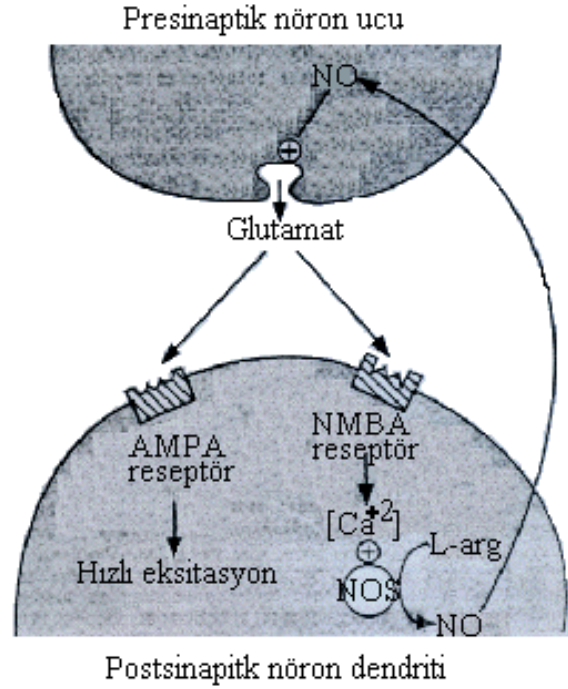
A. Santral sinir sistemi

Fizyolojik rolü:

Spesifik glutamat reseptörünü etkileyen N-metil - D-aspartatla (NMDA) stimüle edilen beyin hücreleri EDRF benzeri yapılar sentez ederler (Şekil 5). Bu yapılardan biri de NO dir (52,53). Yapılan çalışmalarda, beyin dokusunda aktif çalışan arjinin-NO yolunun varlığı ispatlanmıştır (54). NO, bu reseptörleri etkilemekte ve hücre içindeki cGMP konsantrasyonunu artırarak fizyolojik etki göstermektedir. Glutamat tarafından indüklenen sinirsel ileti işleminde NO'in bir nörotransmitter olarak rol oynadığı tam olarak ispat edilmiştir (14,55).

NOS, insan ve hayvanların beyin dokusunun her tarafında değişen oranlarda bulunmaktadır. Yapılan çok sayıda çalışma NO'in hafıza oluşumunda kısmen de olsa rol aldığını ortaya koymuştur. İn vitro spesifik reseptör stimülasyonundan sonra postsinaptik kaynaktan NO salınmakta ve presinaptik olarak bir veya çok sayıda nöronu etkilemektedir. Bu etki glutamat salınımını daha fazla artırmakta, sonuçta ise sinaptik geçiş artışla sonuçlanmaktadır.

Hafıza oluşumu ile ilgili çalışmalar, öğrenme fonksiyonunun bozulduğu durumlarda NOS'ın inhibe olduğunu ve NO düzeyinin azaldığını ortaya koymuştur. Ayrıca NO koku alma, ağrı duyusu ve görme işlevinde de fizyolojik olarak rol almaktadır (56).



Şekil 5. Beyin dokusunda arjinin-NO yolu

Patolojik rolü:

Eksite edici amino asitlerin (aspartat, glutamat) aşırı salınımı konvülsiyon ve nörotoksositeye neden olmaktadır (52). Bu amino asitlerle reseptörlerin uyarılması ve sonrasında NOS'ın aktivasyonu, serebral iskemi ve epilepsi gibi durumlarda aşırı NO sentezi ve nöral defektlere neden olduğu ileri sürülmüştür. Bu hipotezi destekleyen bulgular hala tartışmalıdır (14). Beyinde monosit türü mikroglial hücreler, indüklenilebilen tip NOS sentez edebilmektedir. Bu hücreler AIDS'de hafıza kaybı, Parkinson, Alzhemeir hastalığı, Maltipl skleroz'un patogenezinde de rol oynamaktadır.

Aşırı üretilen NO'in neden olduğu beyin hasarına, indüklenilebilir veya konstitüv NOS ya da her ikisinin sebep olup olmayacağı tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak konu ile ilgili araştırmalar yoğun olarak devam etmektedir.

B. Periferik sinir sisteminde NO

NO, merkezi ve periferik sinir sisteminde bir nörotransmitter gibi rol oynayarak sinirlerden impuls geçişini etkilemektedir (57).

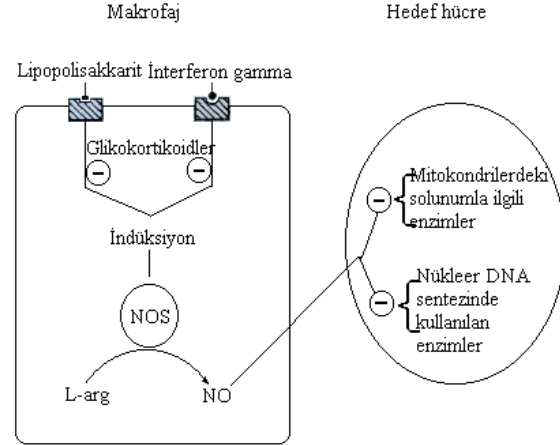
NO hayvanlarda, mide içi basınca karşı mideyi dilate ederek yeni duruma uyumunu sağlamaktadır. Ayrıca gastro intestinal sistemin özellikle sfinkterlerinde gevşemeye yol açarak bu organların fizyolojik fonksiyonlarının regüle edilmesine katkıda bulunmaktadır (20). İnsanlarda l-Arjinin-NO yolu korpus kavernozumun gevşemesiyle penis ereksiyonunu sağlamaktadır (58-60). Elektriksel olarak oluşturulan korpus kavernozumun gevşemesi NOS inhibitörlerince engellenebilmektedir. İmmünohistokimyasal çalışmalarda insan penisi dokusunda NO sentezleyen sinirlerin varlığı ortaya konmuştur. Buradan da anlaşılacağı üzere NO, penis ereksiyonunun önemli bir modülatörüdür (61). Nonadrenerjik ve nonkolinerjik vazodilatasyonlar (trakeanın gevşemesi gibi) NO ile ilişkili olaylardır. NO sentezinin inhibe edildiği durumlarda idrar kesesinin kapasitesinin azaldığı tespit edilmiştir. NO'ü nörotransmitter olarak kullanan sinir sistemleri ; adrenerjik, kolinerjik ve peptiderjik sinirler kadar önemli fizyolojik işlevler göstermektedir (62-65). NO'ü nörotransmitter olarak kullanan sinir sistemlerinin fonksiyon bozuklukları ilgili dokularda hasarlara yol açmaktadır. Örneğin, korpus kavernozumunu uyaran sinirlerdeki fonksiyon bozukluğu iktidarsızlığa neden olmaktadır.

Sitotoksik ve sitostatik ajan olarak NO:

İnterferon veya bakteri lipopolisakkaritleri tarafından aktive edilen makrofajlar büyük miktarda NO sentez ederler. Aktivasyonun olmadığı durumlarda makrofajlarda NOS bulunmaz. İndüksiyondan sonra enzim sentezi ve dolayısıyla NO sentezi meydana gelmektedir. L-Arjinin-NO yolunun indüklenmesi, saatlerce hatta günlerce devam eden NO sentezine neden olmaktadır (4). Ancak aşırı NO sentezi hücreler için oldukça zararlı etkiler meydana getirmektedir (4). Makrofaj kaynaklı NO, bakteri, parazit ve tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etki yapmaktadır (Şekil 6) (66-69).

NO bakteri, parazit gibi birçok patojenin ve tümör hücrelerinin ATP üreten oksidatif fosforilasyonunun (ubikinson redüktaz'ı), glikolizinin (gliseraldehid-3-fosfat dehidrojenaz'ı), TCA siklusunun (Cis-akonitaz'ı) Fe içeren bazı enzimlerini inhibe etmekte ve sonuçta bakteri, parazit, tümör hücrelerini öldürmektedir (70-72). NO, hedef hücrelerde (bakteri, parazit, tümör hücresi) DNA sentezinin hız kısıtlayıcı enzimi olan ribonükleotid redüktazı bloke eder ve hücre DNA'sının deaminasyonu ile bu hücrelerde stostatik etki meydana getirir (73,74). Ayrıca NO'in, bazı

viruslarda viral replikasyonu inhibe ederek antiviral etki oluşturduğu bildirilmiştir (75,76).



Şekil 6. Makrofaj kaynaklı NO, bakteri, parazit ve tümör hücrelerinde çeşitli enzimlerin fonksiyonunu etkileyerek sitotoksik etki yapmaktadır.

Makrofajlardan özellikle monositlerde L-Arjinin-NO yolu; tümör hücreleri, intra- ve ekstrasellüler mikroorganizmalara karşı çok önemli bir defans mekanizmasıdır.

Nitrik oksidin immünitedeki rolü:

Yıllar önce araştırmacılar bazı bakteri ürünleriyle nonspesifik bir mekanizma ile kansere karşı direncin artırılabilirdiğini göstermişlerdir. Bugünkü bilgilerimize göre bu direnç artışı makrofaj aktivasyonu ve NO sentezi ile doğrudan bağlantılı nonspesifik bir immün olaydır. Nonspesifik immün reaksiyonlar; makrofaj aktivasyonu, NOS'ın indüklenmesi, uzun süreli ve çok miktarda NO sentezinden ibarettir. Bu nonspesifik immünite sadece RES.'le sınırlı olmayıp hepatositler ve akciğer hücrelerinde de tespit edilmiştir.

NO'e bağımlı nonspesifik immünitede karaciğer ve akciğerin rolü, bu iki organın, sirkülasyonun immünolojik filtreleri gibi fonksiyon göreceği stratejik bir konumda yer almasından kaynaklanmaktadır.

Makrofaj kaynaklı NO sentezinin uzun süreli ve çok miktarda üretilmesi, aşırı biriken NO makrofaj ve diğer hücrelerde hasar meydana getirecektir. Makrofajların aktive olduğu durumlarda özellikle glikokortikoid ve l-arjinin türevlerinin etkisi, indüklenbilir NOS'ın (iNOS) inhibisyonu ve NO sentezinin azalması yönünde olacaktır. Bu inhibisyona

ilaveten bazı transkripsiyonal inhibisyon mekanizmalarının varlığından da bahsedilmektedir. Ancak bu mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır.

KAYNAKLAR

- Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 9265-9.
- Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333: 664-6.
- Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol (USA)* 1993;54(2):171-8.
- Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-37.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacol Reviews* 1991; 43(9): 109-37.
- Star RA. Nitric oxide. *Am J Med Sci (USA)*. 1993;306(5):348-58.
- Tayeh MA, Marletta MA. Macrophage oxidation of L-arginine to nitric oxide, nitrite and nitrate: Tetrahydrobiopterin is required as a cofactor. *J Biol Chem*. 1989; 264:19654-8.
- Moncada S. The L-arginine: Nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand* 1992; 145(3): 201-27.
- Ignarro LJ. Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication. *Hypertension (USA)* 1990;16(5):477-83.
- Andersson KE, Persson K. Nitric oxide synthase and nitric oxide-mediated effects in lower urinary Tract smooth muscle. *World J Urol (Germany)* 1994;12(5):274-80.
- Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994; 298: 249-58.
- Marletta MA. Approaches toward selective inhibition of nitric oxide synthase. *J Med Chem* 1994; 37: 1899-907.
- Cendan JC, Topping DL, Pruitt J, Snowdy J, Copeland EM, Lind DS. Inflammatory mediators stimulate arginine transport and arginine-derived nitric oxide production in a murine breast cancer line. *J Surg Res.USA* 1996; 60(2): 248-88.
- Dawson VL. Nitric oxide: role neurotoxicity. *Clin Exp Pharmacol Physiol (Australia)* 1995;22(4):305-8.
- Bachmann S, Mundel P. Nitric oxide in the kidney: Synthesis, localization and function. *Am J Kidn Dis* 1994; 24(1): 112-29.
- Hevel JM, White KA, Marletta MA. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase. Identification as flavoprotein. *J Biol Chem* 1991; 266: 22789-91.
- Geller DA, Lowenstein CS, Shapiro RA, Nussler AK, Disilvio N, Wang S, et al. Molecular cloning and expression of inducible nitric oxide synthase from human hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 3491- 5.
- Snyder SH. Nitric oxide: First in a new class of neurotransmitters. *Science* 1992;257: 494-6.
- Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Ann Neurol* 1992;32:297-311.
- Tottrup A, Glavind EB, Svane D. Involvement of the L-arginine-nitric oxide pathway in internal anal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 1992;102:409-15.
- Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis (U S A)*. 1995;38(2):87-104.
- Calver A, Collier J, Moncada S, Vallance P. Effect of local intra-arterial NG-monomethyl-L-arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. *J Hypertens* 1992;10:1025-31.
- Sogni P, Moreau R, Ohsuga M, Cailmail SiOberti F, Hadengu A, et al. Evidence for normal nitric oxide-mediated vasodilator tone in consciousness. *Hepatology* 1992;16:980-3.
- McCall TB, Feelisch M, Palmer RMJ, Moncada P. Identification of N- iminoethyl-L- ornithine as an irreversible inhibitor of nitric oxide synthase in phagocytic cells. *B J Pharmacol* 1991; 102: 234-8.
- Bassenge E. Coronary vasomotor responses: role of endothelium and nitrovasodilators. *Cardiovasc Drugs Ther (U S A)*. 1994;8(4):601-10.
- Varela AF, Runge A, Ignarro LJ, Chaudhuri G. Nitric oxide and prostacyclin inhibit fetal platelet aggregation: a response similar to that observed in adults. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:1599-604.
- De Graaf JC, Banga JD, Moncada S, Palmer RM, de Groot PG, Sixma JJ. Nitric oxide functions as an inhibitor of platelet adhesion under flow conditions. *Circulation* 1992;85:2284-90.
- Radomski MW, Palmer RMS, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987; 2: 1057-8.
- Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Characterization of the L-arginine:nitric oxide pathway in human platelets. *Br J Pharmacol* 1990;101:325-8.
- Kubes P, Suzuki M, Granger DM. Nitric oxide: An endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4651- 5.
- Wolfe TA, Dasta JF. Use of nitric oxide synthase inhibitors as a novel treatment for septic shock. *Ann Pharmacother (USA)* 1995;29(1):36-46.
- Hibbs JB Jr, Westenfelder C, Taintor R, Vavrin Z, Kablitz C, Baranowski RL, et al. Evidence for cytokine-inducible nitric oxide synthesis from L-arginine in patients receiving interleukin-2 therapy. *J Clin Invest* 1992;89:867-77.
- Hotchkiss RS, Karl IE, Parker JL, Adams HR. Inhibition of NO synthesis in septic shock. *Lancet* 1992;339:434-5.
- Luscher TF, Diederich D, Siebenmann R, et al. Difference between endothelium- dependent relaxation in arterial and in venous coronary bypass grafts. *N Eng J Med* 1988; 319: 462-7.
- Cox DA, Vita JA, Treasure CB, et al. Atherosclerosis impairs flow mediated dilatoin of coronary arteries in human. *Circulation* 1989; 80: 458-65.

36. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in child ren and adults at risk of Atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340:1111-5.
37. Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, Just H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L- arginine. *Lancet* 1991; 338: 1546-50.
38. Creager HA, Gallagher SJ, Girerd XJ, Coleman SM, Dzau VJ, Cooke JP. L-arginine improves endothelium- dependent vasodilation in hypercholesterolaemic humans. *J Clin Invest* 1992; 90: 1248- 53.
39. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal endothelium- dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension . *N Eng J Med* 1990;323: 22-7.
40. Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA. Role of endothelium derived nitric oxide in the abnormal endothelium dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation* 1993;87:1468-74.
41. Balis C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest* 1992; 90: 278-81.
42. Yukimura T, Yamashita Y, Miura K, Okumura M, Yamanaka S, Yamamoto K. Renal effects of the nitric oxide synthase inhibitor; L-NG- nityroarginine, in dogs. *Am J Hypertens* 1992; 5: 484-7.
43. Elabbady AA, Gagnon C, Hassouna MM, Begm LR, Elhilaki MM. Diabetes mellitus increase nitric oxide synthase in penises but not in major pelvic ganglia of rats. *B J Urol* 1995; 76: 196-202.
44. Vallence P, Leone A, Calver A, Colier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-5.
45. Corbett JA, McDaniel ML. Does nitric oxide mediate autoimmune destruction of beta-cells? Possible therapeutic interventions in IDDM. *Diabetes (USA)* 1992;41(8):899-903.
46. Roberts JD, Polaner DM, Lang P, Zapol WM. Inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 1992;340:818-9.
47. Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Slama K, Pison U, Zapol WM. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993;328:399-405.
48. Pepka-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. *Lancet* 1991; 338: 1173-4.
49. Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG; Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 181: 852-7.
50. Pizcueta P, Pique JM, Fernandez M, Bosch J, Whittle BJ, et al. Modulation of the hyperdynamic circulation of cirrhotic rats by nitric oxide inhibition. *Gastroenterology* 1992;103:1909-15.
51. Nussler AK, Di Silvio M, Billiar TR, Hoffman RA, Geller DA, Selby R, et al. Stimulation of the nitric oxide synthase pathway in human hepatocytes by cytokines and endotoxin. *J Exp Med* 1992;176:261-4.
52. Lynch DR, Dawson TM. Secondary mechanism in neuronal trauma . *Curr Opin Neurol (USA)* 1994;7(6):510-6.
53. Faraci FM, Breese KR. Nitric oxide mediates vasodilatation in response to activation of N-methyl-D-aspartate receptors in brain. *Circ Res* 1993;72:476-80.
54. Paakkari I, Lindsberg P. Nitric oxide in the central nervous system. *Ann Med (England)* 1995;27(3):369-77.
55. Garthwaite J, Boulton CL. Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol (USA)* 1995;57:683-706.
56. Olesen J, Thomsen LL, Iversen H. Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. *Trends Pharmacol Sci (England)* 1994;15(5):149-53.
57. Rand MJ, Li CG. Nitric oxide as a neurotransmitter in peripheral nerves: nature of transmitter and mechanism of transmission. *Annu Rev Physiol (USA)* 1995;57:659-82.
58. Burnett AL, Lowenstein CJ, Bredt DS, Chang TS, Snyder SH. Nitric oxide : a physiologic mediator of penile erection. *Science* 1992;257:401-3.
59. Bush PA, Aronson WJ, Buga GM, Rajfer J, Ignarro LJ. Nitric oxide is a potent relaxant of human and rabbit corpus cavernosum. *J Urol* 1992;147:1650-5.
60. Trigo-Rocha F, Aronson WJ, Hohenfellner M, Ignarro LJ, Rajfer J, Lue TF. Nitric oxide and cGMP: mediators of pelvic nerve-stimulated erection in dogs. *Am J Physiol* 1993;264:H419-22.
61. Burnett AL, Tillman SL, Chang TS; Epstein JL, Lowenstein CJ, Bredt DS, et al. :Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. *J Urol* 1993; 150:73-8.
62. Iselin CE, Alm P, Schaad NC, Larsson B, Grabber P, Andersson KE. Nitric oxide inhibits contraction of isolated pig ureteral smooth muscle. *J Urol* 1996; 155: 763-7.
63. Hayashida H, Okamura T, Tomoyoshi T, Toda N. Nourogenic nitric oxide mediates relaxation of canine corpus cavernosum. *J Urol* 1996; 155: 1122-7.
64. Toda N, Kitamura Y, Okamura T. Role of nitroxydergic nerve in dog retinal arterioles invivo and arteries invitro. *Am J Physiol* 1994; 266: H1985-89.
65. Burnett AL, Takeda M, Maguire MP, Lepor H, Chamness SL, Chang TSK, Ricker DD. Characterization and localization of nitric oxide synthase in the human prostate. *Urology* 1995; 45: 435-40.
66. Munoz-Fernandez MA, Fernandez MA, Fresno M. Synergism between tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma on macrofage activation for the killing of intracellular *Trypanosoma cruzi* through a nitric oxide-dependent mechanism. *Eur J Immunol* 1992;22:301-7.
67. Liew FY, Li Y, Millott S. Tumour necrosis factor (TNF-alpha) in leishmaniasis. II. TNF-alpha-induced macrophage leishmanicidal activity is mediated by nitric oxide from L-arginine. *Immunology* 1990;71:556-9.
68. Green SJ, Meltzer MS, Hibbs JB Jr, Nacy CA. Activated macrophages destroy intracellular *Leishmania major* amastigotes by an L-arginine-dependent killing mechanism. *J Immunol* 1990;144:278-83.

69. Lin JY, Chadee K. Macrophage cytotoxicity against *Entamoeba histolytica* trophozoites is mediated by nitric oxide from L-arginine. *J Immunol* 1992;148:3999-4005.
70. Zhang J, Snyder SH. Nitric oxide stimulates auto-ADP-ribosylation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:9382-5.
71. Dimmeler S, Brune B. Characterization of a nitric-oxide-catalysed ADP-ribosylation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Eur J Biochem* 1992;210:305-10.
72. Taylor-Robinson AW, Severn A, Phillips RS. Kinetics of nitric oxide production during infection and reinfection of mice with *Plasmodium chabaudi*. *Parasite-Immunology* 1996;18-8:425-30.
73. Lepoivre M, Feischi F, Coves J, Thelander L, Fontecave M. Inactivation of ribonucleotide reductase by nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;179:442-8.
74. Kwon NS, Stuehr DJ, Nathan CF. Inhibition of tumor cell ribonucleotide reductase by macrophage derived nitric oxide. *J Exp Med* 1991;174:761-8.
75. Croen KD. Evidence for antiviral effect of nitric oxide. Inhibition of herpes simplex virus type 1 replication. *J Clin Invest* 1993;91:2446-52.
76. Karupia G, Xie Q, Buller RML, Nathan C, Duarte C, MacMicking JD. Inhibition of viral replication by interferon-gamma induced nitric oxide synthase. *Science* 1993;261:1445-8.

Yazışma adresi : Yard.Doç.Dr. Yusuf TÜRKÖZ

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyokimya ABD

44069 MALATYA