

cGMP ve Klinik Önemi

cGMP AND ITS CLINICAL IMPORTANCE: REVIEW

Dr. Uzay GÖRMÜŞ,^a Dr. Dilek ÖZMEN^{a,b}

^aBiyokimya AD, ^bKlinik Biyokimya BD, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İZMİR

Özet

Sinyal ileti yollarının mekanizmalarının ayrıntılı olarak değerlendirilebilmeleri hastalık etiyojilerinin anlaşılması ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilebilmesi açısından oldukça önemlidir. Sinyal ileti yollarındaki ikincil mesajcı türlerinden biri olan 3'-5'-siklik guanozin monofosfat (cGMP), henüz ayrıntılı olarak bilinmeyen fakat vücut dengesinin sürdürülmesinde önemli roller aldığı düşünülen bir moleküldür. Guanil siklazlar ve cGMP-aracılıklı sinyal kaskadları, vasküler düz kas motilitesi, bağırsak sıvı-elektrolit homeostazisi ve retinal fototransdüksiyon gibi farklı (patofizyolojik olayların düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadırlar. cGMP yolağındaki basamakların ve bunların hastalıklarla ilişkilerinin anlaşılmasıyla, bu sinyal yolağıının gelecekte hem tanı hem de tedavi açısından kullanışlı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: cGMP, guanilat siklaz, protein kinaz, nitrik oksit

Abstract

The evaluation of mechanisms of signal transduction pathways is crucial to the understanding of disease etiology and, in turn, the development of novel therapeutic strategies. 3-5-cyclic guanosine monophosphate (cGMP), an important secondary messenger, though yet to be explicitly detailed, is thought to be a molecule of significant importance in maintaining homeostasis. Guanylyl cyclases and cGMP-mediated signaling cascades play a central role in the regulation of diverse (patho-) physiological processes, including vascular smooth muscle motility, intestinal fluid and electrolyte homeostasis, as well as retinal photo-transduction. An understanding of the stages of the cGMP pathway and their relationships to individual disease processes may prove to be useful both diagnostically and therapeutically.

Key Words: cGMP, guanylate cyclase, protein kinase, nitric oxide

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25:678-687

Biyolojik düzenin devamı için organizmanın en küçük yapıtaşları olan hücrelerin birbiriyle uyumlu çalışması şarttır, bunun için gereken temel faktör hücreler arası iletişimidir. Birbirine komşu hücreler arasındaki iletişim, direkt bağlantılarla gerçekleştirilirken birbirine çok uzak hücrelerin de haberleşmeleri gerekmektedir. Organizmalar, bu haberleşme ağının kurulması ve bedensel dengenin devamı için "hayatın gerçek yönetmenleri" olan hormonları üretmektedirler. Organizmaya bildirmeye çalıştığı mesajı "hormon" dilinde üreten hücreler dışında, bu dili anlayabilen

başka özelleşmiş hücrelere de ihtiyaç vardır. Böylece hormon üretebilen hücrelerle birlikte, hormonal etkilerin gerçekleşeceği hedef hücreler ve aracı moleküller de evrim sürecinde yerini bulmuştur. Hormonal etkilerin izleneceği hücrelerde, hormonlardan gelen mesajı kendi anlayabileceği dile çevirebilmek için "reseptör" adı verilen algılayıcı proteinler bulunmaktadır.

Salgılanan hormonların reseptörle temasa geçtikten sonra hücre içinde yarattığı değişiklikler zincirine "sinyal yolağı" denmektedir.

Hücreler arası iletişim çeşitli ara basamaklardan oluşmaktadır:¹

1. Sinyal üretebilen hücrelerden gereken sinyalin yollanması (hormon salgılanması)
2. Sinyalin hedef hücreye ulaştırılması (doğuşım sistemi)

Geliş Tarihi/Received: 23.03.2005 Kabul Tarihi/Accepted: 23.05.2005

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Uzay GÖRMÜŞ
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya AD, 35100, Bornova, İZMİR
dr_uzay@yahoo.com

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

3. Hedef hücrenin sinyali algılaması (reseptör)
4. Sinyalin hedef hücrede biyokimyasal ve elektriksel bir reaksiyona dönüştürülmesi
5. Sinyalin sonlanması (kovalent modifikasyonlarla veya degradasyonla)

Hücrenin sadece gelen mesajın varlığını algılaması yeterli olmayıp, mesajın ulaştığı hücrenin diline çevrilmesi de gerekmektedir. Bu noktada düşük molekül ağırlıklı “ikincil mesajcı (İM)”lar görev almaktadırlar. Hücrenin kimyasal dengesinde değişiklikler yaparak etki gösteren İM’ler sayesinde reseptörün iletilmesi hücrenin ana kontrol merkezlerine (hücrenin beyni olan nukleusa, metabolik yollara, hücre iskeletine) ulaştırılmakta ve böylece etkin işlevsel sonuçların ortaya çıkması sağlanmaktadır.

Hormonların yapısal durumlarına göre reseptörler, intrasellüler veya membran reseptörü şeklinde bulunmaktadır. İntrasellüler reseptörler hücre membranından geçebilen hormonlarla etkileşirken, membran reseptörleri hücre zarını geçemeyen hormonların kendilerinin değil, yalnızca iletmek istedikleri bilgilerin hücre içine alınmasına fırsat vermektedirler.^{1,2}

Membran reseptörleri genel olarak ekstrasellüler, transmembran ve intrasellüler olmak üzere 3 bölüme ayrılmaktadır. Bu reseptörler genellikle intrasellüler parçalarında treonin, serin ve tirozin amino asitlerini sıkça bulunduran moleküller olup, bu yapı hücre içinden fosfata bağlı negatif yükler halinde gelen bilgilerin alınmasına yardım etmekte, böylece reseptörün hücre içindeki değişiklikleri duyan kulağını oluşturmaktadır. Taşıyan fosfat grupları bu 3 amino asitten “fosfatazlar” yardımıyla ayrılıp, “kinazlar” yardımıyla tekrar bu amino asitlere eklenmekte, dolayısıyla da taşıdıkları negatif yüklerdeki değişimler ile iletilen sinyalin açma-kapama düğmesi şeklinde rol oynamaktadırlar. Reseptörlerin fosfatla modifikasyonu, hücrenin dışardan gelecek uyarana karşı ne derece etkin yanıt verebileceğini belirleyen ana feedback mekanizmasıdır.

Membran reseptörlerin de bazı alt grupları bulunmaktadır:²

- Ligand kontrollü reseptörler: Bunlarda transmembran bölge iyonları selektif olarak geçiren bir kanal oluşturmaktadır (örn. asetilkolin reseptörü iyon kanalı)

- Reseptör enzimler: Enzim aktivitesi reseptörün intrasellüler bölümündedir (örn. insülin reseptörü)
- Reseptör proteinler (serpentin reseptör): İntrasellüler enzimler indirekt olarak G-proteinlerini kullanmaktadır. Ligand bağlanması sonrasında reseptörde konformasyonel bir değişiklik oluşmakta, bu değişiklik sinyal yolağının sonraki aşaması olarak heterotrimerik G-proteinlerini aktive etmektedir.^{1,2}

G-proteinleri geniş bir regülatuar GTPaz ailesinin üyeleridir. GTP’yi hidroliz edebildiklerinden dolayı temel hücrel olaylarda açma-kapama düğmesi gibi rol almaktadırlar.

GTPaz süperaillesinin yüzden fazla üyesi vardır. Bunlar sekans homolojilerine, moleküler ağırlıklarına ve subünitelerinin yapılarına göre alt gruplara ayrılmışlardır:^{1,2}

- ◆ Heterotrimerik G-proteinleri
- ◆ Ras/GTPaz süperaillesi
- ◆ İnisiyasyon ve elongasyon faktörleri

Heterotrimerik G-proteinleri 3 subüniteden meydana gelir:^{1,3}

- α subünitesi (38-46 kDa) (en az 20 farklı genden oluşur)
- β subünitesi (37 kDa) (5 farklı genden oluşur)
- γ subünitesi (8 kDa) (12 farklı genden oluşur)

α -subünitesi GTP ve GDP için bağlanma bölgesine ve GTPaz aktivitesine sahiptir. β ve γ subüniteleri ise birbirlerine sıkıca bağlıdırlar. Heterotrimerik G-proteini (GDP-bağlı) inaktif formdayken, reseptörde konformasyonel değişikliklerin meydana gelmesi sonucunda reseptörün G-proteininin α -subünitesiyle yüksek afiniteli bağlanması sonrasında GDP’nin yerini GTP almakta ve $\beta\gamma$ subünitesi ayrılmaktadır.

G-proteinleri α subünitelerine göre 4 sınıfta incelenmektedirler:²

- Gs
- Gi (bir alt grubu G_{i1} transdusindir, retina bulunur)

- Gq (genelde sonraki basamakta β -tipi fosfolipaz C'yi etkiler)
- G12 (tromboksan ve trombin reseptörleri tarafından aktive edilir)

Aktive G-proteinleri, sinyali sıradaki efektör moleküle (adenilat siklaz, guanilat siklaz (GC), fosfolipaz ve 3'-5'-siklik guanozin monofosfat (cGMP)-spesifik fosfodiesteraz (PDE)'ler gibi) aktarır. Bu enzimlerin aktivasyonu cAMP, cGMP, DAG ve IP₃, Ca²⁺ gibi İM'leri açığa çıkararak daha spesifik reaksiyonların oluşmasına yol açar.¹

İki tip İM belirlenmiştir:^{1,3}

- ◆ Hidrofobik karakterli olanlar: Membrana lokalizedir, plazma membranı üzerinde yol alıp membrana bağlı efektör proteinler üzerine etki ederler (DAG, fosfatidil inositol fosfat gibi)
- ◆ Hidrofilik olanlar: Sitoldeki proteinlere ulaşırlar (cAMP, cGMP, Ca²⁺ gibi).

cGMP'nin Yapısı, Oluşumu ve Yer Aldığı Metabolik Olaylar

cGMP, intrasellüler İM bir moleküldür. GTP'den GC enzimi aracılığıyla yüksek enerjili fosfat bağlarının hidrolizi sonucu ve pirofosfat (PPi) açığa çıkarılarak oluşturulur. Açığa çıkan PPi, bir pirofosfatazla hidrolize edilip iki yüksek enerjili bağ harcanarak, cGMP'nin halkalı yapısı meydana getirilir (Şekil 1).

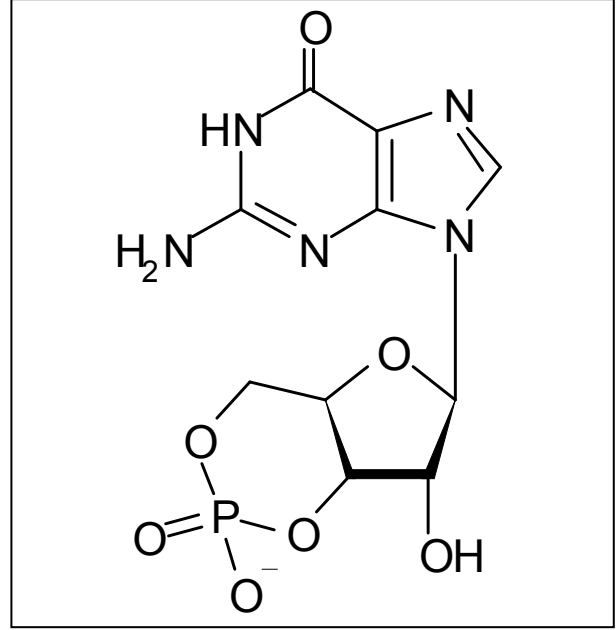
GC enzimleri 2 tiptir:^{4,5}

- *Particulate (zarsal) guanilat siklazlar (pGC),
- *Soluble (çözünebilir) guanilat siklazlar (sGC).

pGC reseptörleri, ekstrasellüler kısmı ligand bağlayan, intrasellüler kısmı ise GC enzim aktivitesi gösteren membran reseptörleri olup, farklı dokularda GC-A ve GC-G arasında değişen tipleri belirlenmiştir.

sGC ise α ve β olmak üzere 2 subünitesi olan dimerik yapıda "hem" içeren bir enzimdir, yaygın bir sinyal molekülü olan nitrik oksit (NO)'in hedef proteinidir.⁴

cGMP aracılığıyla gerçekleştiği bilinen hücrel olaylar:⁵⁻⁷



Şekil 1. cGMP'nin moleküler yapısı.

- ❖ Fotoreseptörlerin ışık reaksiyonlarının düzenlenmesi,
- ❖ Kardiyak ve düz kaslardaki kontraksiyonlarının kontrol edilmesi,
- ❖ Böbrekte iyon transportu ve su tutulumunun düzenlenmesi,
- ❖ Bağırsaklarda iyon transportunun düzenlenmesi,
- ❖ Hem embriyonik beyin gelişimine, hem de erişkin beyninin fonksiyonlarına etki edilmesi,
- ❖ Platelet ve immün sistem hücrelerinin etkinliğinde önemli bir görev üstlenilmesi şeklinde sıralanabilir.

cGMP'nin Etkinlik Mekanizmaları

cGMP'nin etkinlik göstermek için kullandığı başlıca 3 yol vardır:¹⁻³

- ✓ cGMP-aracılı protein kinazlar,
- ✓ cGMP-aracılı katyon kanalları,
- ✓ cGMP ile kontrol edilen PDE'ler,

1. cGMP-aracılı protein kinazlar [Protein Kinaz G (PKG), cGK]

cGMP'nin, etkinliğinin büyük bölümünü PKG üzerinden gösterdiği düşünülmektedir. PKG,

protein kinaz A (PKA)'ya yapısal olarak benzeyen bir serin-treonin kinazdır.

cGMP'nin ve PKG'nin önemli bir görevi sitozolik Ca^{2+} düzeylerinin düzenlenmesidir. Düz kas hücrelerinde cGMP, Ca^{2+} 'da bilinmeyen bir mekanizmayla düşmeye yol açmaktadır.¹

2. cGMP-aracılı iyon kanalları

Siklik nükleotidlerle düzenlenen kanallar 2 grupta toplanmıştır.⁸

- Siklik nükleotid-aracılı kanallar (CNG)
- Hiperpolarizasyonla aktive olan siklik nükleotid-aracılı kanallar (HCN)

CNG katyon kanalları, kanal proteinine cGMP veya cAMP'nin direkt bağlanmasıyla aktive olup Na^+ ve K^+ 'ın hücreye girişini düzenlerler. Voltaj-bağımlı katyon kanalları ailesine dahil olan CNG kanalları olfaktör nöronların siliyalarında ve rod ve kon fotoreseptör nöronların dış segmentlerinde bulunurlar. Ayrıca beyinde, testiste, böbrekte ve kalpte de bu kanallara rastlanmıştır.⁸

CNG kanallarının farklı tiplerinin cGMP'ye ve cAMP'ye afiniteleri farklılıklar göstermektedir. Örneğin, fotoreseptör kanalların cGMP'yi güçlü bir şekilde ayırt etmelerine karşın, olfaktör kanallar cAMP ve cGMP'ye karşı eşit hassasiyete sahiptirler.⁸

HCN'ler de voltaj-aracılı katyon kanalları olup, beyinde ve kalpte hem siklik nükleotidlerle, hem de plazma membranının hiperpolarizasyonu ile aktive olmaktadır. Diğer benzeri kanalların tersine, HCN kanalları hiperpolarizasyonla açılmakta, pozitif potansiyellerde ise kapanmaktadır. cAMP ve cGMP, HCN kanal aktivitesini kanalların aktivasyon eğrilerini daha pozitif voltajlara kaydırarak arttırmakta, böylece aktivasyon eşiği arttığından, kanalın açılması için daha yüksek enerji değişimlerine ihtiyaç duyulmaktadır.⁸

3. cGMP ile kontrol edilen PDE'ler

cGMP'nin hücresel etkinliği yalnızca sentezine değil, yıkım hızına da bağlıdır. cGMP'nin hücredeki görevi sonsuza kadar sürmez, çünkü özel PDE'ler cGMP'nin halka yapısını bozarak 5'-GMP oluşturmaktadır.³

PDE ailesinin değişik dokularda en az 10 izoformu bulunmakta, bunların hepsi C-

terminalinde ~270 amino asitlik katalitik bir bölge içermektedir. Katalitik bölge, 3'-5' siklik nükleotidleri fosfodiester bağımlı yıkararak 5' monofosfat haline çevirmektedir.

PDE'ler aracılığıyla kardiyak fonksiyonlar, erkek erektil yanıtı ve fototransdüksiyon olayları gerçekleşmektedir. PDE'lerden en iyi bilineni peniste bulunan izoformudur. VIAGRA olarak bilinen selektif bir PDE-5 inhibitörü olan "Sildenafil", cGMP'nin yıkımını engelleyerek erektil disfonksiyonunun tedavisinde kullanılmaktadır.¹ Sildenafil, ayrıca pulmoner vasküler direnci düşürerek pulmoner arteriyel hipertansiyonlu hastalarda egzersiz toleransını da arttırmaktadır.⁹

cGMP Sinyal Yolunu Kullanan Moleküller

cGMP sinyal yolağını kullandığı bilinen başlıca moleküller NO ve natriüretik peptid (NP) ailesidir.

1. Nitrik oksit

NO, ekstrasellüler ve intrasellüler uyarılar sonucunda özel enzimlerin aktivasyonu ile intrasellüler olarak oluşturulan, membranları serbestçe geçebilen, çok kısa yarı-ömüre sahip bir moleküldür.

NO, arjininden Nitrik Oksit Sentaz (NOS) reaksiyonu ile oluşturulur:



NO, yapıldığı hücreye etki edebildiği gibi, diffüze olabildiğinden dolayı, komşu hücreler üzerinde de etkili olabilmektedir. Dolayısıyla intrasellüler bir mesajcı olmasının yanı sıra otokrin ve parakrin etkileri de vardır.¹ NO, hedef proteinde birikebilmekte ve diğer mesajcılardan farklı olarak bu hedef proteinde kovalent modifikasyonlara da yol açabilmektedir. NO aracılığıyla sinyalin aktarılabilmesi için redoks reaksiyonların oluşması gerekmektedir.¹⁰

NO'nun yer aldığı başlıca metabolik yanıtlar şunlardır:¹⁰⁻¹²

- ◆ Endotele bağlı damar gevşemesi,
- ◆ Nörotransmisyon, nörotransmitter salınımı,
- ◆ Platelet agregasyonunun inhibisyonu,
- ◆ Nötrofil infiltrasyonunun inhibisyonu,

- ◆ Vasküler yeniden şekillenmenin (remodeling) inhibisyonu.

NO, hedef hücrelerde sGC hem grubuna bağlanıp cGMP yapımını aktive etmektedir.

NO donörlerinin cGMP aracılığıyla kültüre edilmiş mezangeal hücrelerde replikasyonu ve ekstrasellüler matrikse adezyonu inhibe ettikleri gözlenmiştir.¹¹ NO'nun çok yüksek miktarları, rat mezangeal hücrelerinin apoptozuna da sebep olmakta, ancak bu etkisinin cGMP yolu üzerinden değil, oksidan özelliğinden dolayı ortaya çıktığı düşünülmektedir.¹¹

Kalpde NOS'un tüm izoformları (NOS-1, NOS-2, NOS-3) bulunmaktadır. NO, hem bazal hem de katekolaminlerle indüklenmiş kronotropik ve inotropik fonksiyonları miyositlerde ve sağlam kalpte arttırmaktadır.¹² Bu etkilerin bilinen sebepleri sGC aktivasyonu, elektron transport zincirinin inhibisyonu, süperoksit ve peroksinitrit gibi oksidanların oluşumu ve tiol gruplarının S-nitrozilasyonudur. NO sentezinin, koroner oklüzyon sonrasında oluşabilecek ventriküler aritmeye karşı koruyucu etkili olduğu, NOS inhibisyonunun da, sempatik stimülasyonla oluşan taşikardiyi arttırdığı belirlenmiştir.¹²

2. Natriüretik peptidler

NP'ler, özellikle vücudun kan basıncı ve sıvı dengesinde önemli rolleri olan ve bu etkilerini cGMP yolağı üzerinden gösterdiği bildirilen bir peptid ailesidir.

NP'lerin bilinen 4 tipi vardır:^{13,14}

- Atriyal Natriüretik Peptid (ANP),
- Beyin Natriüretik Peptid (BNP),
- C-tipi Natriüretik Peptid (CNP),
- Dendroapsis Natriüretik Peptid (DNP)

NP'lerin başlıca fonksiyonları şunlardır:^{6,11,15-19}

- Kan basıncını ve sıvı dengesini düzenlerler, vazodilatasyon yaparlar,
- Vagal eferentlerin aktivasyon eşliğini düşürür, böylece refleks taşikardi ve vazokonstriksiyonu baskırlar,
- Koroner ve renal kan akımını, GFR ve idrar atılımını, diürezisi ve natriürezisi arttırlar,

- Kardiyovasküler sistem üzerinde antimitotik ve antiproliferatif etkiler göstererek kardiyomiyosit büyümesini, proliferasyonunu ve hipertrofisini engellerler,
- Beyin gelişiminde rol aldıkları düşünülmektedir.

Kalsiyum-bağımlı potasyum kanallarına (BK_{Ca}) spesifik bir inhibitör olan iberotoksin kullanılarak ANP, BNP ve CNP'nin damar gevşetici fonksiyonları değerlendirildiğinde, iberotoksinin bu peptidlerin yanıtını azalttığı belirlenmiştir. Membranlardan serbestçe geçebilen bir cGMP analogu olan 8-bromo-cGMP kullanıldığında ise aortik segmentlerdeki relaksasyonun iberotoksinle inhibe olduğu gösterilmiştir, bu da NP'lerin cGMP aracılığıyla BK_{Ca} kanallarını regüle ederek vasküler relaksasyonda rol aldığını güçlü şekilde desteklemektedir.²⁰

NP'ler dokulara geniş bir şekilde yayılmış 3 farklı reseptöre (NPR) bağlanarak aktivitelerini gösterebilmektedirler.²¹ Bunlar NPR-A, NPR-B ve NPR-C reseptörleridir.

NPR-A ve NPR-B transmembran proteinler olup, GC reseptör ailesinin üyesidirler.²¹ Bu reseptörlere bağlanma sonucunda intrasellüler cGMP miktarında artış meydana gelmektedir. NP'ler, bilinen etkilerini cGMP aracılıklı protein kinazlar, PDE'ler ve iyon kanalları üzerinden yapmaktadırlar.³

NPR-A büyük kan damarlarının endotelinde en sık görülen reseptör tipidir.

NPR-A, ANP'ye yüksek afiniteyle bağlanırken BNP'ye afinitesi 10 kat daha zayıf olup, CNP'ye karşı ise en zayıf afiniteyi göstermektedir. NPR-A'nın uyarılması vazorelaksan ve natriüretik etkilerin oluşmasını sağlamaktadır.¹⁴

NPR-B baskın olarak beyinde lokalize olmasına rağmen, vasküler düz kaslarda da bulunmaktadır. CNP'ye en yüksek afiniteyle bağlanırken, ANP ve BNP'ye daha az afinitesi vardır.

NPR-C ise vücutta en sık görülen NP reseptörüdür (%95) GC aktivitesine sahip olmayan 37 aa'lık intrasellüler bir bölüm içeren NPR-C, peptid ligandıyla bağlandıktan sonra internalize olmakta, bu yüzden de temizlik fonksiyonu olduğu düşünülmektedir.¹⁴

cGMP ve Hücre Fonksiyonlarındaki Rolü

1. cGMP ve vasküler düz kas relaksasyonu (Şekil 2)

cGMP, kardiyak hücrelerde hem sitoplazmadan Ca^{2+} atılmasını sağlayan iyon pompalarını stimüle ederek hem de kontraktıl aparatın Ca^{2+} sensitivitesini azaltarak kalp kasılmalarının gücünü azaltmaktadır.^{3,7,22}

PKG ayrıca BK_{Ca} 'yı da fosforile eder, böylece K^+ 'nın dışarı atılmasına sebep olarak hiperpolarizasyona yol açar; Ca^{2+} 'nın içeri alınmasını da voltaj-bağımlı iyon kanallarıyla inhibe ederek gevşemeyi sağlar.⁷

2. cGMP ve bağırsaklarda sıvı-elektrolit dengesinin düzenlenmesi (Şekil 3)

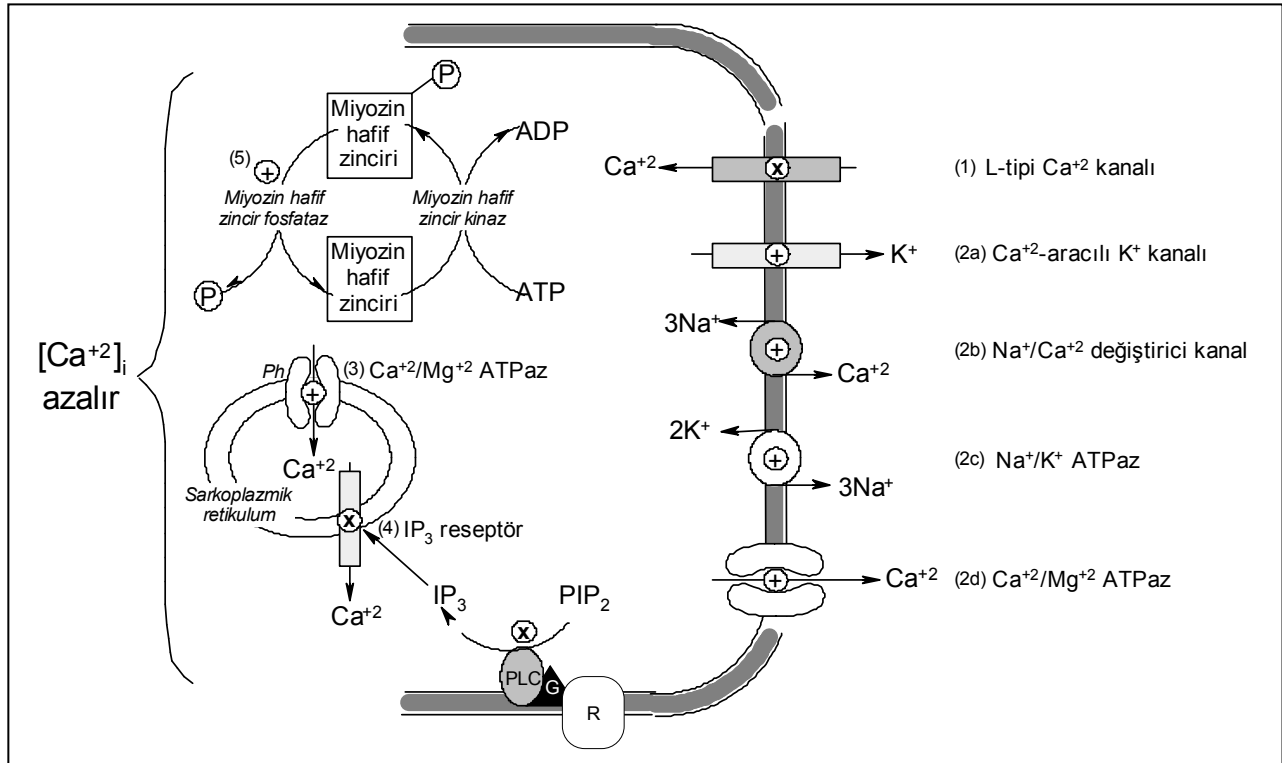
Bağırsak epitel hücrelerinin C-tipi GC (GC-C) reseptörleri, *Escherichia coli* ve diğer Gr (-) bakterilerin ısıya dayanıklı endotoksinlerinin hedefidir. Bu endotoksinlerin etkisiyle oluşan cGMP artışı,

bağırsak lümenine Cl^- salgısını artırıp bağırsaklardaki sıvıların geri emilimini azaltarak diareye sebep olmaktadır.^{3,5}

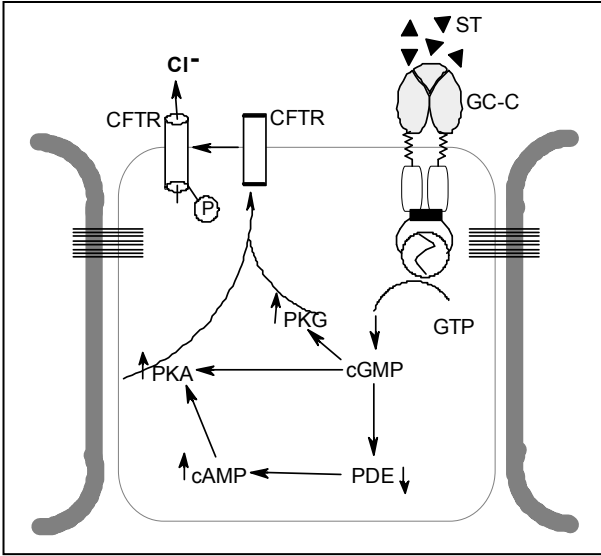
Bakteriyel kolonizasyon sonrasında bağırsak lümeninde heat stable enterotoksin (ST) yapımı artmakta ve ST, GC-C'nin ekstrasellüler bölümüne bağlanmaktadır. Bu şekilde hücre içinde artan cGMP, PKG'yi aktive ederken, cAMP-spesifik bir PDE'yi inaktive edebilmekte veya direkt olarak PKA'yı da aktive edebilmektedir. Yine membran üzerinde bulunan bir diğer Cl^- kanalı olan kistik fibrozis transmembran regülatörü (CFTR), PKA veya PKG ile fosforile olduğunda açık hale geçmekte ve Cl^- 'un konsantrasyon gradientine bağlı olarak sürekli dışarı atılmasına, dolayısıyla da diare yoluyla elektrolit kaybına neden olabilmektedir.³

3. cGMP ve fototransdüksiyon

cGMP'nin rolleri arasında en iyi bilineni görme olayındaki yeridir. Omurgalılarda ışık gözbe-



Şekil 2. cGMP aracılığıyla gerçekleştiği düşünülen vasküler düz kas relaksasyonunun mekanizması. cGMP $[Ca^{2+}]_i$ 'yi azaltarak ve kontraktıl aparatın Ca^{2+} 'a hassasiyetini düşürerek düz kas gevşemesini sağlamaktadır. cGMP $[Ca^{2+}]_i$ 'yi L-tipi Ca^{2+} -kanallarından Ca^{2+} girişini engelleyerek (1) ve Ca^{2+} pompalayan ATPaz (2d) ve Na^+/Ca^{2+} değişirici kanallar (2b) aracılığıyla hücre dışına Ca^{2+} atılımını sağlayarak azaltmaktadır. cGMP, Na^+/K^+ ATPaz (2c) ve K^+ kanallarını (2a) aktive edip hiperpolarizasyona sebep olarak Ca^{2+} 'un Na^+/Ca^{2+} değişirici kanallarla atılımına, sarkoplazmik retikulumda (3) Ca^{2+} pompalayan ATPaz (Ph, fosfolamban) ile Ca^{2+} tutulmasında da aracılık yapabilmektedir. Ayrıca IP_3 oluşumunu (4) ve sarkoplazmik retikulumdaki IP_3 reseptörünü de inhibe etmektedir. cGMP'nin kontraktıl aparatın kalsiyum duyarlılığını miyozin hafif zincir fosfatı aktive edip 20 kDa'lık miyozin hafif zincirini defosforile ederek düşürdüğü düşünülmektedir.



Şekil 3. cGMP aracılığıyla intestinal sekresyon.

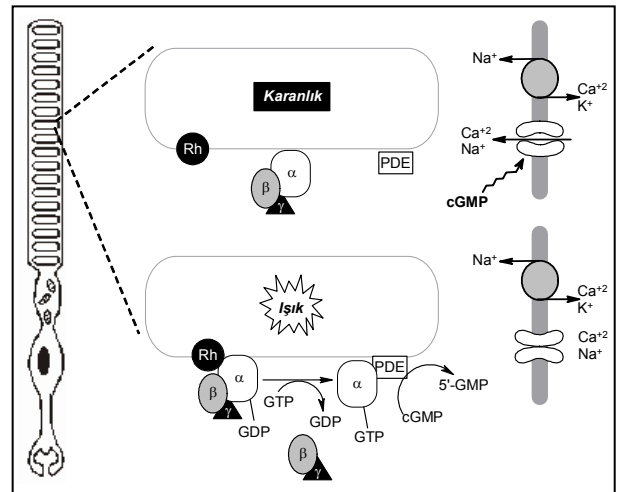
beğinden girdikten sonra ışığa hassas rod ve kon nöronları üzerine odaklanmakta ve böylece bu hücrelerde cGMP'nin de rol aldığı reaksiyonlar dizisi başlamaktadır (Şekil 4).

Rodlar, yüksek rezolüsyonla az miktarda ışığı dahi algılayabilirken, renklere hassasiyetleri bulunmamakta, buna karşılık konlar ise rengin algılanmasını sağlamaktadırlar. Bu hücrelerin dış segmentinde bol miktarda rodopsin içeren membranöz diskler bulunurken, iç segmentinde nukleus ve bol sayıda mitokondri bulunmaktadır. Tıpkı diğer nöronal membranlardaki gibi rod ve konlar da belli bir elektriksel membran potansiyeline (V_m) sahiptirler. Bu potansiyelle, iç segmentin plazma membranındaki Na^+K^+ ATPaz ve dış segment membranında Na^+ ve Ca^{2+} geçişini sağlayan cGMP-aracılı iyon kanalları sayesinde ulaşılmaktadır. Karanlıkta rod hücrelerinde bu kanalları açmaya yetecek cGMP mevcuttur. Dolayısıyla membran potansiyeli, iç segmentten dışarı pompalanan Na^+ ve K^+ ile, dış segmentteki Na^+ akışı (depolarizasyon) sağlayan pompaların dengesi sonucunda sağlanmaktadır.²

Retinal rod ve konlarda sinyalin başlaması için ışık etkisiyle cGMP konsantrasyonunun düşmesi gerekmektedir. Daha sonra plazma membranı Na^+K^+ ATPaz ile hiperpolarize olmaktadır.²³

Dış segmentte yer alan rodopsin, uyarılmış formdayken, G-protein ailesine mensup heterot-

rimerek ($\alpha\beta\gamma$ -trimer) bir GTP-bağlayıcı protein olan transdusin ile etkileşmektedir. Karanlıkta transdusin GDP'ye bağlı olup sinyal izlenmemekte, ancak rodopsin ışıkla uyarıldığında transdusindeki GDP, GTP ile yer değiştirmektedir. Trimerik transdusin, GTP ile bağlanması sonucunda α ve $\beta\gamma$ alt gruplarına bölünmekte, oluşan $T\alpha$ -GTP, ileti yolundaki sinyali uyarılmış reseptörden, bir sonraki basamakta yer alan retinanın vizüel hücrelerine özel cGMP PDE'ye aktarmaktadır. Görme olayında spesifik olarak PDE-5 rol almaktadır. Karanlıkta; PDE-5, aktivitesini etkin bir şekilde baskılayan inhibitör bir subüniteye bağlıdır. Işık uyarısıyla $T\alpha$ -GTP oluştuğunda PDE-5 inhibitör subünitesinden ayrılmakta ve enzimin aktivitesinde ani bir artış olmaktadır. Her PDE molekülü birden çok cGMP'yi 5' GMP'ye dönüştürmekte; ve böylece saniyeler içinde dış segmentte cGMP konsantrasyonu düşerek cGMP'ye bağlı iyon kanalları kapanmakta, dış segmente Na^+ ve Ca^{2+} girişi engellenerek, rod ve kon hücreleri hiperpolarize olmaktadır. Özet olarak karanlıkta yüksek miktarda bulunan GMP'nin bağlanması sonucu açık kalan katyon kanalları, ışığın etkisiyle kapanmakta ve hücre hiperpolarize olarak görsel algılama olayı gerçekleşmektedir (Şekil 4).^{2,23,24}



Şekil 4. Rod hücrelerindeki görme olayında cGMP ana rollerden birini almaktadır. Karanlıkta hücre içinde iyon kanallarının açık kalmasına yetecek kadar cGMP mevcuttur, rodopsinin (Rh) ışıkla uyarılması sonucunda transdusinle (T) etkileşmesi, transdusinin $T\alpha$ ünitesinin GTP bağlayarak $T\beta\gamma$ ünitesinden ayrılmasına ve fosfodiesterazı (PDE) inhibe etmesi sonucu hücre içinde cGMP düzeylerinin düşmesine sebep olmaktadır. Bunların sonucunda iyon kanalları kapanarak hücrenin hiperpolarizasyonu görsel algılama gerçekleşmektedir.

Her rodopsin ~500 transdusin molekülünü,
Her transdusin molekülü ~1 PDE'yi,
PDE ise ~4200 cGMP'yi hidrolize etmektedir.

cGMP ve Klinik Önemi

Endotelial hücre (EH) tabakası, sadece basit bir bariyer değildir; hem kan hücrelerini, hem de alt tabakada olan vasküler düz kas hücreleri (VSMC)'ni etkileyebilmektedir.

Farelerde cGK geninin homozigot delesyonu, vasküler, visseral ve penil düz kasların NO/cGMP-aracılı gevşemesini engelleyerek erken yaşta ölüme sebep olan vasküler ve intestinal disfonksiyonlara yol açmaktadır.⁸ cGMP yolağındaki bozuklukların ateroskleroza başlattığı, hipertansiyon ve diyabetteki vasküler komplikasyonlara da katkıda bulunduğu düşünülmektedir.^{7,25}

Günümüzde aterosklerozun, EH fonksiyonlarında oluşan değişikliklerle başladığına inanılmaktadır. Endotelial disfonksiyon tip 1 ve tip 2 diyabetteki mikroanjyopati ve makroanjyopatilerle de yakından ilişkilidir.²⁴⁻²⁷ Fizyolojik insülin dozları mikrodamarlarda eNOS mRNA miktarını yükseltmekte, bu da vazodilatasyonu ve kan akımını arttırmaktadır.^{28,29} Bunun tersine, in vivo veya in vitro ortamda diyabetik koşullara maruz bırakılmış EC'lerin de eNOS aktivitesinin düştüğü ve diyabetteki vaskülopatilerin bu şekilde başladığı ileri sürülmektedir.³⁰ İnsüline bağlı NO/cGMP yapımı, cGK_{1α}'yı aktive ederek mitogen activated protein kinaz (MAPK) yolağı üzerinden MAP kinaz fosfataz-1 (MKP-1) ekspresyonunu indükleyerek MAPK defosforilasyonuna ve VSMC göçünün inhibisyonuna yol açmaktadır.^{29,31}

Normal koşullarda VSMC, glukozu kullanarak aerobik glukoliz yapıp hücrenin redoks potansiyelini arttırarak GC aktivitesinin artışına yol açmaktadır. Hipoteze göre, VSMC'de redoks potansiyelinin artması, sGC'nin katalitik bölgesindeki thiol gruplarını indirgemekte, dolayısıyla da düzenleyici bölge NO ile aktive olup GC aktivitesi artmaktadır.²² İnsülin hücreye glukoz girişini arttırarak redoks potansiyeline katkıda bulunup, sonraki aşamalarda cGMP aracılığıyla miyozin fosfataz stimülasyonunu sağlayarak VSMC relaksasyonunu gerçekleştirmektedir.⁷ Bu durumda insülinin iNOS aktivitesini arttırmadan, NO'nun kaynağından bağımsız olarak da

NO ile stimüle olan cGMP yapımını arttırabildiği sonucuna varılabilmektedir.²² Ateroskleroz ve restenoz oluşumunda, VSMC'lerin arteriyel mediadan intimaya göçü de kritik bir basamaktır. NP'lerin ve NP'lerden bağımsız olarak cGMP'nin, ateroskleroz oluşumunda ve balon anjiyoplastisi sonrası oluşan restenozun gelişiminde önemli olan VSMC proliferasyonunu ve göçünü de MAPK yolunu kullanarak engellediği belirlenmiştir.^{22,29}

Konjestif kalp yetmezliği (KKY) hastalarında, her ikisi de cGMP üzerinden hareket eden NP'lerin ve NO'nun miktarlarının arttığı belirlenmiştir. cGMP'nin sistolik fonksiyonlar dışında, diyastolik fonksiyonların düzenlenmesinde de doza bağlı etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir.³²

Kolinerjik aktivasyonun kalbi sempatik uyarıların prodüktif etkilerine karşı koruduğu bilinmektedir. Vagal tonusun artışı, ani kardiyak ölümle bağlantılı olarak değerlendirildiğinde iyi bir prognostik göstergedir. Presinaptik nöronal NOS inhibisyonu vagal bradikardinin şiddetini azaltmakta, NO donörleri de asetilkolin salınımını arttırarak vagal sinir stimülasyonuna kalp yanıtını güçlendirmektedir. Bu, büyük olasılıkla cGMP'nin PDE₃'ü inhibisyonu ile ilişkili olup, bu inhibisyonla PKA-bağımlı presinaptik N-tipi Ca²⁺ kanalları fosforile olmakta, böylece Ca²⁺ un hücreye girişi arttırılarak veziküler asetilkolin salınımı sonucu vagal bradikardi güçlendirilmektedir.¹⁹ NO'nun yaptığı etkileri NP'lerin de yapıp yapamadığı araştırılmış ve benzer sonuçlara ulaşılmıştır.¹⁹ ANP ve BNP ile alınan bradikardik yanıtların ancak yüksek dozlarda ortaya çıkabildiği, BNP ve CNP'nin vagal uyarılara kalp yanıtını fizyolojik frekanslar dahilinde arttırdığı belirlenmiştir.¹⁹

cGMP'nin vazodilatasyon dışındaki diğer etkileri de çalışılmış ve uzun süreli cGMP yüksekliğinin rat ve insanlarda β-adacık hücrelerini apoptoza götürdüğü belirlenmiştir; cGMP'nin, şimdiye kadar belirlenememiş olan β-hücre viabilitesinin kontrolünde rol alan intrasellüler mesajcı olabileceği düşünülmektedir.³³ Kardiyomiyositlerde, retinal fotoreseptörlerde, akciğerde, nötrofillerde ve arteriyel düz kas hücrelerinde cGMP ile apoptoz ilişkisi belirlenmiştir. Buna göre, cGMP klasik apoptoz yolaklarını kullanmamaktadır. cGMP'nin anti- veya pro-apoptotik olma durumunu maruziye-

tin süresi ve şiddeti belirlemektedir. Deneysel modellerde, cGMP'nin orta dereceli akut yükselmesi apoptoza götürmezken, uzun süreli ve sürekli maruziyet hücrenin ölümüne sebep olmaktadır.³¹

cGMP ve cAMP'nin öğrenme ve hafızada da rol aldığı düşünülmektedir.³⁴ Bazı çalışmalarda cGMP'nin serebral korteksteki gabaerjik ve glutamaterjik sinapslarda önemli bir modülatör olduğu saptanmıştır. cGMP, tam olarak belirlenemeyen bir yolla nöronların daha uyarılabilir olmasını sağlamaktadır.³⁵ Ayrıca cGMP'nin, embriyonik gelişim döneminde nöronal yolların oluşumunda da önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.³⁵

ANP ve BNP'nin 1° astrositlere ve glial hücrelere bağlanarak cGMP yapımını arttırdığına ilişkin çalışmalar da mevcuttur. Ayrıca CNP'nin de kültüre edilmiş fare astrositlerinde güçlü bir cGMP stimülatörü olduğu belirlenmiştir.³⁶

Bu etkilerin dışında NP'lerin intraoküler basıncı düşürebildiği, tavşan siliyer cisimciğinde GC aktivitesini arttırdığı saptanmıştır.³⁶ Dolayısıyla NP'lerin ve cGMP'nin diyabetik retinopatide ve glokomdaki etkileri de irdelenmelidir.

Sonuç

Sinyal ileti yollarının mekanizmalarının ayrıntılı olarak değerlendirilebilmeleri, hastalık etiyojilerinin anlaşılması ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilebilmesi açısından oldukça önemlidir. Sinyal ileti yollarında rol alan İM'lerden biri olan cGMP, henüz ayrıntıları tam olarak bilinmeyen, ancak vücut dengesinin sürdürülmesinde önemli rolleri olduğu düşünülen bir moleküldür. Tam olarak anlaşıldığı takdirde, cGMP yolağının klinikte de etkin bir şekilde kullanılabilmesi düşünülmektedir. Örneğin, cGMP üzerinden hareket eden ve kardiyovasküler hastalıklarda sık kullanılan NO donörleri, serbest radikal oluşumuna katkıda bulunarak doku hasarı yapabilmekte, uzun süreli kullanımlarında ise toleransa yol açabilmektedirler. Bu yüzden daha gelişmiş tedavi stratejilerine ihtiyaç duyulmakta, reaktif oksijen ürünleri oluşturmadıkları için cGMP üzerinden hareket eden diğer moleküller durumundaki NP'lerin, nitratlara göre klinikte daha büyük faydalar sağlayabileceği düşünülmektedir.²⁹ NO ve NP ilişkilerinin tam ola-

rak belirlenebilmesi ve yeni tedavi stratejilerinin planlanabilmesi için konu hakkında daha ayrıntılı deneysel ve klinik araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Diabetes mellituslu hastalardaki NO, NP ve cGMP değişimlerinin incelenmesi ve bunların β-hücre viabilitesi ve diğer kardiyovasküler parametrelerle ilişkilerinin belirlenmesi sonucu hem yeni prognostik parametreler elde edilebilecek, hem de yeni tedavi stratejileri geliştirilebilecektir.^{2,22,27} Son yıllarda yürütülen çalışmalarda, cGMP'nin nöronal dokular üzerine etkilerini incelenmekte ve cGMP yolağının nöronal gelişimde önemli bir rol aldığı düşünülmektedir.⁶ Bu durumda, nöropatilerde ve diyabetik retinopatide de bu yolağın etkinliğinin araştırılması gerekmektedir.

Sonuç olarak, cGMP yolağının ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmesi ile elde edilecek sonuçların kardiyovasküler hastalıklar, diabetes mellitus, nörolojik hastalıklar, diyabetik komplikasyonlar ve glokom tanı ve tedavisinde klinik yararlanım sağlayabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Krauss G. Intracellular messenger substances: "Second Messengers", cGMP. *Biochemistry of Signal Transduction and Regulation*. 2nd ed. Weinheim (Germany): Wiley-VCH; 2001. p.219-20.
2. Nelson DL, Cox MM. *Biosignaling. Lehninger's Principles of Biochemistry*. 4th ed. New York: WH Freeman and Company; 2005. p.421-64.
3. Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S, et al. Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol Rev* 2000;52:375-414.
4. Pyriochou A, Papapetropoulos A. Soluble guanylyl cyclase: More secrets revealed. *Cell Signal* 2005;17:407-13.
5. Padayatti PS, Pattanaik P, Ma X, van den Akker F. Structural insights into the regulation and the activation mechanism of mammalian guanylyl cyclases. *Pharmacol Ther* 2004;104:83-99.
6. DiCicco-Bloom E, Lelievre V, Zhou X, Rodriguez W, Tam J, Waschek JA. Embryonic expression and multifunctional actions of the natriuretic peptides and receptors in the developing nervous system. *Dev Biol* 2004; 271:161-75.
7. Birschmann I, Walter U. Physiology and pathophysiology of vascular signaling controlled by guanosine 3',5'-cyclic monophosphate-dependent protein kinase. *Acta Biochim Pol* 2004;51:397-404.
8. Hofmann F, Biel M, Kaupp UB. International Union of Pharmacology. XLII. Compendium of voltage-gated ion channels: Cyclic nucleotide-modulated channels. *Pharmacol Rev* 2003;55:587-9.

9. Yap LB, Mukerjee D, Timms PM, Ashrafian H, Coghlan JG. Natriuretic peptides, respiratory disease, and the right heart. *Chest* 2004;126:1330-6.
10. Blaise GA, Gauvin D, Gangal M, Authier S. Nitric oxide, cell signalling and cell death. *Toxicology* 2005;208:177-92.
11. Buschhausen L, Seibold S, Gross O, Matthaes T, Weber M, Schulze-Lohoff E. Regulation of mesangial cell function by vasodilatory signaling molecules. *Cardiovasc Res* 2001;51:463-9.
12. Hoit BD. Two faces of nitric oxide: Lessons learned from the nos2 knockout. *Circ Res* 2001;89:289-91.
13. Gardner DG. Natriuretic peptides: Markers or modulators of cardiac hypertrophy? *Trends Endocrinol Metab* 2003;14:411-6.
14. Mair J, Hammerer-Lercher A, Puschendorf B. The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:571-88.
15. Van der Zander K, Houben AJ, Kroon AA, De Mey JG, Smits PA, de Leeuw PW. Nitric oxide and potassium channels are involved in brain natriuretic peptide induced vasodilatation in man. *J Hypertens* 2002;20:493-9.
16. Sengenès C, Berlan M, De Glisezinski I, Lafontan M, Galitzky J. Natriuretic peptides: A new lipolytic pathway in human adipocytes. *FASEB J* 2000;14:1345-51.
17. McKenna K, Smith D, Moore K, Glen A, Tormey W, Thompson CJ. Brain natriuretic peptide increases urinary albumin and alpha-1 microglobulin excretion in Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2001;18:973-8.
18. Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro) BNP. *Eur J Heart Fail* 2004;6:257-60.
19. Herring N, Zaman JA, Paterson DJ. Natriuretic peptides like NO facilitate cardiac vagal neurotransmission and bradycardia via a cGMP pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:H2318-27.
20. Otsuka K, Tanaka H, Horinouchi T, Koike K, Shigenobu K, Tanaka Y. Functional contribution of voltage-dependent and Ca²⁺ activated K⁺ (BK(ca)) channels to the relaxation of guinea-pig aorta in response to natriuretic peptides. *J Smooth Muscle Res* 2002;38:117-29.
21. Mair J, Hammerer-Lercher A, Puschendorf B. The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:571-88.
22. Kahn AM, Allen JC, Seidel CL, Lichtenberg DS, Song T, Zhang S. Insulin increases no-stimulated guanylate cyclase activity in cultured VSMC while raising redox potential. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000;278:E627-33.
23. Garger AV, Richard EA, Lisman JE. The excitation cascade of limulus ventral photoreceptors: Guanylate cyclase as the link between InsP3-mediated Ca²⁺ release and the opening of cGMP-gated channels. *BMC Neurosci* 2004;5:7.
24. Rosenkranz AC, Hood SG, Woods RL, Dusting GJ, Ritchie RH. B-type natriuretic peptide prevents acute hypertrophic response in the diabetic rat heart, importance of cyclic GMP. *Diabetes* 2003;52:2389-95.
25. Bell DS. Heart failure: The frequent, forgotten, and often fatal complication of diabetes. *Diabetes Care* 2003;26:2433-41.
26. Yano Y, Katsuki A, Gabazza EC, et al. Plasma brain natriuretic peptide levels in normotensive noninsulin-dependent diabetic patients with microalbuminuria. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2353-6.
27. Asakawa H, Fukui T, Tokunaga K, Kawakami F. Plasma brain natriuretic peptide levels in normotensive Type 2 diabetic patients without cardiac disease and macroalbuminuria. *J Diabetes Complications* 2002;16:209-13.
28. Brown JE, Kelman ES. Ca²⁺ induces an increase in cgmp-phosphodiesterase activity in squid retinal photoreceptors. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;224:684-9.
29. Jacob A, Molkenstin JD, Smolenski A, Lohmann SM, Begum N. Insulin inhibits PDGF-directed VSMC migration via NO/cGMP increase of MKP-1 and its inactivation of MAPKs. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;283:C704-13.
30. Calles-Escandon J, Cipolla M. Diabetes and endothelial dysfunction: A clinical perspective. *Endocr Rev* 2001;22:36-52.
31. Hart CY, Hahn EL, Meyer DM, Burnett JC Jr, Redfield MM. Differential effects of natriuretic peptides and NO on LV function in heart failure and normal dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:H146-54.
32. Kaminski A, Gao H, Morgan NG. Involvement of the cGMP signaling pathway in the regulation of viability in insulin-secreting BRIN-BD11 cells. *FEBS Lett* 2004;559:118-24.
33. Erceg S, Monfort P, Hernandez-Viadel M, Llansola M, Montoliu C, Felipe V. Restoration of learning ability in hyperammonemic rats by increasing extracellular cGMP in brain. *Brain Res* 2005;1036:115-21.
34. Barnstable CJ, Wei JY, Han MH. Modulation of synaptic function by cGMP and cGMP-gated cation channels. *Neurochem Int* 2004;45:875-84.
35. Rollin R, Mediero A, Roldan-Pallares M, Fernandez-Cruz A, Fernandez-Durango R. Natriuretic peptide system in the human retina. *Mol Vis* 2004;10:15-22.
36. Yamahara K, Itoh H, Chun TH, et al. Significance and therapeutic potential of the natriuretic peptides/cGMP/cGMP-dependent protein kinase pathway in vascular regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:3404-9.