

PREGLEDNI RAD – REVIEW PAPER

DOI: 10.2298/VETGL1304245J

UDK 619:612.015.33

KORISNI I ŠTETNI EFEKTI AZOT-MONOKSIDA*
USEFUL AND HARMFUL EFFECTS OF NITRIC OXIDES. Jović, Jelka Stevanović, Sunčica Borozan, B. Dimitrijević,
Svetlana Fišter, Jelena Aleksić**

U živim sistemima sinteza azot-monoksida nastaje tokom metabolizma, od L-arginina, nitrita i askorbata. S obzirom da je važan prenosilac informacija u okviru mnogih fizioloških ali i patoloških procesa u organizmu sisara, azot-monoksid može biti i koristan i štetan.

Sinteza azot-monoksida u zdravom organizmu je poželjna jer predstavlja osnovni molekul za razumevanje brojnih procesa u neurologiji, psihologiji, imunologiji i najrazličitijim drugim oblastima. Naime, azot-monoksid učestvuje u nizu fizioloških procesa, među kojima su: prenos nervnih signala (neurotransmitterska uloga), regulacija relaksacije glatkomišićnih tkiva (npr. vazodilatacija), odvijanje peristaltičkih pokreta, imunomodulacija, aktivacija mastocita, razvoj zapaljenske reakcije, regulacija apoptoze, angiogeneze i metabolizma glukoze, normalno funkcionisanje srca i antioksidantna uloga.

Osim što je koristan, azot-monoksid može da bude i štetan jer poseduje jedan nespareni elektron, tako da podleže oksidaciji i postaje stabilan slobodni radikal. Kao takav, brzo reaguje sa superoksidanjon radikalom, dajući prvo izuzetno reaktivan peroksinitrit anjon, a potom i peroksinitritnu kiselinu. Ona je vrlo opasna jer dovodi do: oksidacije tiolnih grupa, nitrozilovanja tirozina i fenil-alanina, oksidacije lipida, cepanja lanaca DNK, nitrovanja i dezaminacije nukleinskih baza. Ova oštećenja makromolekula mogu izazvati niz nepoželjnih promena kojima se remeti funkcija molekula a time i ćelije, tkiva pa i organa.

Ključne reči: azot monoksid, nitrozacioni stres, proteini, lipidi

* Rad primljen za štampu 04. 06. 2012. godine

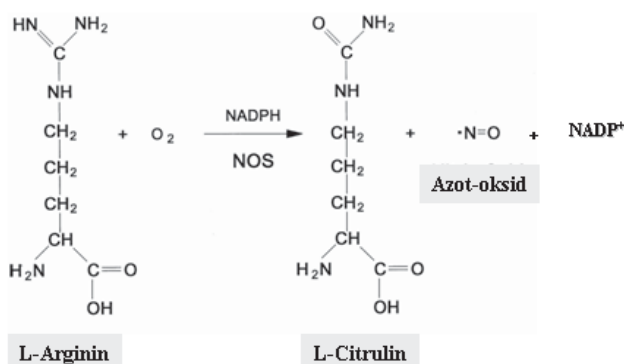
** Dr sci med. vet. Slavoljub Jović, docent, dr sci med. vet. Jelka Stevanović, redovni profesor, dr sci Sunčica Borozan, redovni profesor, dr sci med. vet. Blagoje Dimitrijević, asistent, dr sci med. vet. Jelena Aleksić, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dr sci Svetlana Fišter, docent, Univerzitet Union-Nikola Tesla, Fakultet za ekologiju i zaštitu životne sredine, Beograd

Uvod / Introduction

Azot-monoksid ili azot-oksida (NO) je dugo pominjan samo kao toksičan gas, ali je od osamdesetih godina prošlog veka dokazano njegovo učešće u odvijanju brojnih fizioloških i patofizioloških procesa: prenos signala među ćelijama, regulacija tonusa krvnih sudova, imunomodulacija, aktivacija mastocita, inflamacija, agregacija trombocita i dr.

Sinteza azot-monoksida / The synthesis of nitric oxide

Azot-monoksid nastaje tokom metabolizma, od L-arginina (Shema 1), nitrita i askorbata (Moncada i sar., 1991; Moncada i Higgs, 1993).



Shema 1. Sinteza azot-monoksida u ćelijama sisara
Scheme 1. Nitric oxide synthesis in mammal cells

Azot-monoksid može nastati *in vivo* i direktnom redukcijom nitrita u kiseloj sredini. Ovaj proces se intenzivno odvija u želucu tokom varenja hrane kada se vrednost pH kreće od 2,5 do 4,5 (McKnight i sar., 1997).

Azot-monoksid može da nastane iz nitrita i u ishemičnom miokardu, verovatno da bi, kao moćan vazodilatator, obezbedio potrebnu prokrvljenost. Međutim, prekomerna sinteza dovodi do oštećenja miokarda i slabljenja njegove kontraktilnosti (Zweier i Talukder, 2006; Jović i sar., 2009).

Azot-monoksid je važan prenosilac informacija u okviru mnogih fizioloških, ali i patoloških procesa u organizmu sisara, tako da može biti i koristan, i štetan (Hou i sar., 1999; Jović i sar., 2009; Maes i sar., 2011).

Poželjna dejstva azot-monoksida / Desirable effects of nitric oxide

Biološki poluživot azot-monoksida je različit i zavisi od koncentracije, koncentracije kiseonika i prisustva drugih supstanci (Mayer i Hemmers, 1997;

Sarkar i Webb, 1998). Iako je izrazito hidrofoban, NO može slobodno da difunduje kroz membrane bilo koje ćelije i da stupi u interakciju sa svim molekulima u ćeliji i van nje. Ovaj proces je moguć jer NO ima malu molekulsku masu i jedan nesparen elektron (Mayer i Hemmers, 1997).

Sinteza NO u zdravom organizmu je poželjna, posebno kada se zna da je on bitan molekul za razumevanje brojnih procesa u neurologiji, psihologiji, imunologiji i najrazličitijim drugim oblastima. Zato je 1992. godine NO i proglašen za "molekul godine" (Culotta i Koshland, 1992).

Azot-monoksid učestvuje u nizu fizioloških procesa, među kojima su: prenos nervnih signala (funkcioniše kao jedan od neurotransmitera), kontrola relaksacije krvnih sudova (vazodilatacije) i regulacija relaksacije drugih glatko-mišićnih tkiva (npr. pilorusa, jejunuma, kolona i unutrašnjeg analnog sfinktera), kao i odvijanje peristaltičkih pokreta (Alemayehu i sar., 1994; Burnett, 1995). U sklopu ove funkcije je i zaštita organa od oštećenja, jer je, na primer, vazodilatacija ključna u zaštiti jetre od ishemije. Osim toga, NO učestvuje u imunomodulaciji, u okviru nespecifične odbrane od patogena, u aktivaciji mastocita (Coleman, 2002), a važan je i kao medijator inflamatornih procesa (Stark i Szurszewski, 1992; Taddei i sar., 1998; Isenovic i LaPointe, 2000; Jović i sar., 2009). Nalaz po kome je smanjenje aktivnosti iNOS u imunom sistemu praćeno povećanjem osetljivosti na infekcije, ukazuje na to da NO učestvuje u zaštiti ćelije od negativnih efekata pojedinih tipova inflamatornih bolesti (MacMicking i sar., 1995).

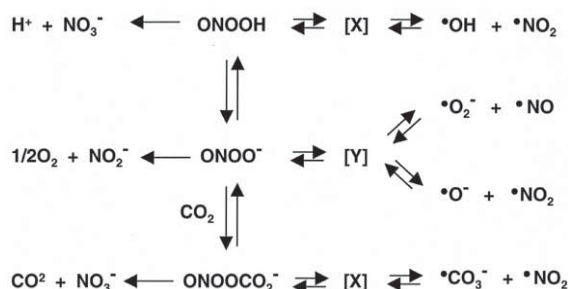
Azot-monoksid je potreban i za inhibiciju agregacije trombocita, regulaciju apoptoze (Kim i Sar, 2001) i angiogeneze (Ziche i Morbidelli, 2000), za kontrolu procesa vezanih za reprodukciju (Thaler i Epel, 2003), normalno funkcionisanje rada srca (Isenovic i sar., 2001), zarastanje površinskih rana (Frank i sar., 2002), za oslobađanje Ca^{2+} iz sarkoplazmatskog retikuluma tokom kontrakcija poprečnoprugastih mišića (Eu i sar., 2000; Stamler i Meissner, 2001), a učestvuje i u metabolizmu glukoze (Roberts i sar., 1997).

Azot-monoksid može da reaguje sa drugim reaktivnim vrstama i da deluje kao antioksidans. Reaguje sa jonima gvožđa i jonima drugih prelaznih metala koji se nalaze u aktivnim centrima proteina, kao i sa slobodnim gvožđem. Tako, redukcijom Fe^{3+} inhibira Fentonovu reakciju, i na taj način sprečava stvaranje hidroksilnog radikala (OH^{\bullet}) koji se smatra najreaktivnijom vrstom kiseonika. Takođe, reaguje sa višim oksidacionim stanjima hemoproteina (hemoglobina, mioglobina, citohroma – Hemoprotein + Fe^{4+}) i vraća ih u početno stanje. Reverzibilno vezivanje NO za hem citohroma P450 sprečava vezivanje kiseonika i monoksigenaznu aktivnost enzima. Slični inhibicioni mehanizam nastaje i vezivanjem NO za šesto koordinativno mesto hema u citohrom c oksidazi, što ima za posledicu inhibiranje transporta elektrona u mitohondrijama (Cassina i Radi, 1996). NO direktno reaguje i sa visokoenergetskim reaktivnim vrstama, kao što su alkoksil (RO^{\bullet}) i alkil-hidroperoksil radikali (ROO^{\bullet}) i zaustavlja lančanu reakciju peroksidacije, odnosno peroksidaciju lipida (Rubo i sar., 1994).

Koliko je važna uloga azot-monoksida govori podatak da njegov nedostatak doprinosi razvoju hipertenzije, angine pektoris i impotencije (Moncada i sar., 1991).

Nepoželjna dejstva azot-monoksida / *Undesirable effects of nitric oxide*

Prekomerno i/ili produženo stvaranje NO može da prouzrokuje mnoge patološke procese (Stevanović i sar., 2005; Pacher i sar., 2007; Jović i sar., 2009). S obzirom na to da ima jedan nespareni elektron, azot-monoksid podleže oksidativnom procesu (Shema 2). To ga čini stabilnim slobodnim radikalom koji lako reaguje sa brojnim kiseoničnim vrstama i halogenidima i, u formi nitroksiljona (NO^\cdot), lako koordinuje za jone prelaznih metala (McCleverty, 2004).



Shema 2. Azot-monoksid kao slobodni radikal / *Scheme 2. Nitric oxide as free radical*

U oksidacionim procesima se od NO formiraju mnogo aktivniji intermedijerni produkti (Shema 2). Tako, aktiviranjem NO pomoću superoksid-anjon radikala ili kiseonika nastaju molekuli pripadnici grupacije tzv. reaktivnih azotnih vrsta – RNS (*Reactive Nitrogen Species*). To su azot(II)oksid (NO^\cdot) i azot(IV)oksid (NO_2^\cdot), koji funkcionišu kao slobodni radikali. Osim njih, u RNS spadaju i čestice koje nisu slobodni radikali, kao što su: nitrozil jon – NO^+ , azotasta kiselina – HNO_2 , azot(III)oksid – N_2O_3 , peroksinitrit – ONOO^- i alkilperoksinitrit – ROONO (Kheradmand i sar., 1998; Finkel, 2003; Jović i sar., 2010; 2011). Na primer, prekomerna proizvodnja azot-oksida za vreme zapaljenjskog procesa ili njegovo nedovoljno uklanjanje mogu dovesti do oštećenja tkiva zato što on brzo reaguje sa superoksid-anjon radikalom, u cilju proizvodnje izuzetno reaktivnog peroksinitrit anjona (ONOO^-). Pretpostavlja se da najveća količina peroksinitrita nastaje u mitohondrijama. Peroksinitritni anjon se brzo protonuje do peroksinitritne kiseline (peroksiazotaste), koja se raspada preko niza reaktivnih intermedijera do nitrita i nitrata. Peroksinitritna kiselina dovodi do: oksidacije tiolnih grupa, nitrozilovanja tirozina i fenil-alanina (Lin i sar., 2000), oksidacije lipida, cepanja lanaca DNK, nitrovanja i dezaminacije nukleinskih baza. Na taj način, ovi proizvodi, mogu izaz-

vati niz nepoželjnih promena, čime se remeti funkcija molekula, a time i ćelije, tkiva, pa i organa.

U biološkoj sredini NO može da se oksiduje i u nitrozonijum katjon (NO^+) ili nitroksilni anjon (NO^-) koji su mnogo reaktivniji od samog NO.

Azot(II)oksid (NO^*) je jedan od najprisutnijih slobodnih radikala u telu sisara (Evereklioglu i sar., 2003). Blisko je povezan sa oksidativnim stresom i neadekvatnim funkcionisanjem antioksidativnih enzima. Višak NO^* prouzrokuje inhibiciju mitohondrijalnih respiratornih enzima. Azot-oksid je jedini poznat molekul koji može biti proizveden u količinama dovoljnim da poremeti reakciju superoksid dismutaza (SOD) sa svim proizvedenim superoksidnim anjonima – $\text{O}_2^{\bullet-}$ (Sozmen i sar., 2000; Evereklioglu i sar., 2003; Jović i sar. 2010; 2011). Ovde treba imati u vidu da istovremeno smanjenje koncentracije SOD i GSHPx dovodi do nakupljanja intermedijalnih produkata prvog ($\text{O}_2^{\bullet-}$) i drugog koraka enzimske razgradnje (H_2O_2). Ukoliko ovi kiseonični slobodni radikali pretrpe Fentonovu reakciju, nastaje hidroksilni radikal (OH^*), koji može biti uzrok peroksidacije lipidnih molekula (Beckman i Ames, 1998; Evereklioglu i sar., 2003; Stevanović i sar., 2005; 2011; Jović i sar. 2009; 2010; 2011). U tom pogledu je, tokom oksidativnog stresa, značajna uloga NO^* , pogotovu kada se ima u vidu da je on jedan od najprisutnijih slobodnih radikala.

Visoke koncentracije NO^* ispoljavaju direktne toksične efekte u ćelijama i inhibiraju njihove enzime, uključujući enzime mitohondrija i jedra. Pod uticajem NO^* može doći do modifikacije reaktivnih cisteinskih ostataka, a modifikacija specifičnih cisteinskih rezidua je način direktne signalizacije za ROS i reaktivne vrste azota (RNS).

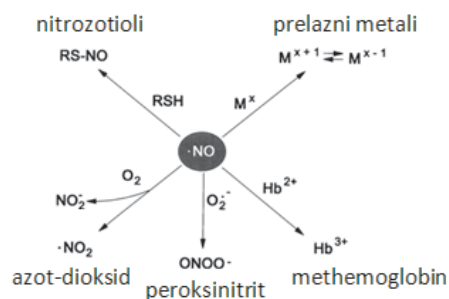
Biohemijski mehanizam dejstva NO predstavlja S-nitrozovanje (RSNO) SH grupa u određenim proteinima, čime se reguliše njihova aktivnost. Sve je više dokaza da se S-nitrozovanje može, po značaju, porediti sa regulatornim mehanizmom fosforilacije najrazličitijih proteina (npr. mnogih enzima, G-proteina, transkripcionih faktora, transportera i jonskih kanala). Najviše zastupljeni S-nitrozilovani protein u krvnoj plazmi sisara je S-nitrozoalbumin.

U uslovima povećane proizvodnje NO dolazi do nitrovanja slobodnog tirozina i tirozinskih ostatka proteina. Prisustvo 3-nitrotirozina u molekulu proteina remeti njegovu funkcionalnost, tako što može inhibirati vezivanje supstrata za enzim ili narušiti protein-protein interakcije. Povećana količina nitrozilovanog tirozina i proteina pronađena je tokom razvoja inflamatornih, infektivnih i degenerativnih procesa, kada dolazi do značajnog povećanja proizvodnje NO i razvija se oksidativni stres (Ischiropoulos, 1998).

Toksičnost NO^* potiče i od njegove mogućnosti da učestvuje u proizvodnji hidroksilnog radikala (OH^*) koji je i sam opasan, a čiji direktan prekursor je veoma toksičan peroksinitrit. Ako nastane višak NO^* i/ili se smanji aktivnost SOD, koje ga stabilizuju, kratkoživeći NO^* se kombinuje sa blago reaktivnim superoksid-anjon radikalom ($\text{O}_2^{\bullet-}$) i obrazuje snažan dugoživeći toksični oksidativni slobodni radikal, peroksinitrit anjon – ONOO^- (Beckman i sar., 1990; Evereklioglu i

sar., 2003). Reaktivni peroksinitritni anjon ispoljava citotoksične efekte: oksidacijom proteinskih i neproteinskih sulfhidrilnih grupa u ćelijama različitih tkiva, toksičnim nitrozilovanjem i/ili nitrovanjem nekih aminokiselina (npr. tirozina, cisteina, triptofana i arginina) u okviru proteina (Mungrue i sar., 2003; Maes i sar., 2011), modifikacijom albumina (Maes i sar., 2011), izazivanjem fragmentacije i inaktivacije brojnih regulatornih proteina i dr. Posledice svega toga su suštinske promene funkcija izmenjenih molekula, koje vode u razvoj najrazličitijih bolesti – dijabetes melitusa, kardiovaskularnih, neurodegenerativnih bolesti i sl. (Pinto i sar., 2008; Maes i sar., 2011; Božić i sar., 2012 in press).

Budući da je hidrofoban, azot-oksida se kumulira u lipidima membrana, gde se i odvija njegova najveća autooksidacija u nitrite *in vivo*. Neosporno je da višak NO^\bullet i/ili nepotpuna aktivnost antioksidansa podstiču peroksidaciju lipidnih molekula. Usled toga se oštećuje funkcija membrana. Naime, usled smanjivanja količine polinezasićenih masnih kiselina i nastanka citotoksičnih metabolita peroksida lipida, opada fluidnost membranskih lipida, što vodi u ćelijsku disfunkciju i smrt (Evereklioglu i sar., 2003). Istovremeno, peroksinitriti reaguju sa nukleinskim kiselinama, proteinima i lipidima, i menjaju ih, tako da se remeti funkcionisanje ostalih delova ćelije, što neminovno rezultira njenim odumiranjem. Obrazovanje peroksinitrita aktivira *circulus viciosus*, u kome se ONOO^- raspada na OH^\bullet (Muijsers i sar., 1997; Evereklioglu i sar., 2003) koji, kao što je već opisano, i sam oštećuje tkivo.



Shema 3. S-nitrozilovanje tiola /
Scheme 3. S-nitrosylation of thiol

S obzirom na to da su mitohondrije glavno mesto proizvodnje ROS i RNS, pod njihovim uticajem ove organele trpe velika oštećenja. Među tkivima, najviše se oštećuje nervno, jer sadrži puno polinezasićenih masnih kiselina koje lako podležu peroksidaciji, i zbog toga što ima visoko zastupljen oksidativni metabolizam, a malu antioksidativnu zaštitu. To objašnjava učešće reaktivnih kiseoničnih i azotovih vrsta (ROS i RNS) u razvoju neurodegenerativnih procesa (Xu i sar., 2000; Maes i sar., 2011). Budući da vaskularni bol slabi u prisustvu inhibitora

nNOS ili u prisustvu nespecifičnih inhibitora guanilat-ciklaze (Holthusen i Ding, 1997) može se pretpostaviti da NO učestvuje u nastanku ovog bola.

Reaktivne azotove vrste (RNS) mogu biti krive i za autoimunske odgovore jer, promenom hemijske strukture brojnih proteinskih molekula, usled nitrovanja i nitrozilovanja, nastaje veliki broj visoko imunogenih novih epitopa. Tako je dokazano da nitrotirozin (N-tirozin), koji se dobija nitrovanjem proteina, snažno utiče na stvaranje neopeptida (Ohmori i Kanyama, 2005).

Azot-monoksid remeti funkciju kapilara i prouzrokuje odlivanje makromolekula iz cirkulacije (Ledwozyw i Stolarczyk, 1992).

Nitriti koji nastaju u kiseloj sredini (pH 3-6), unutar fagocita, daju NO⁺, čije visoke koncentracije dovode do S-nitrozilovanja tiola (Shema 3).

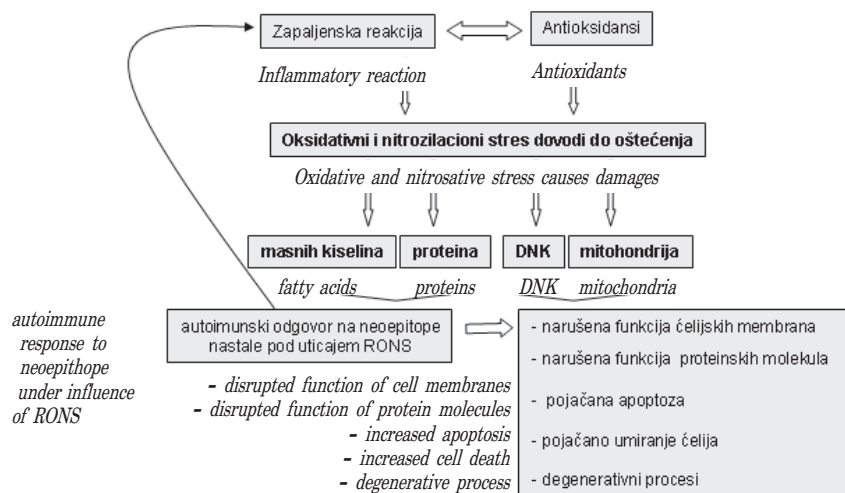
Nitrozacioni stres / *Nitrosative stress*

Povećane koncentracije peroksinitrita i azot-monoksida oslobođene tokom dužeg vremena, prouzrokuju „nitrozacioni stres“ (Wink i sar., 2001; Maes i sar., 2011). On je suštinski povezan sa oksidacionim stresom, pa se u novijoj literaturi ne razdvajaju, već se nazivaju jednim imenom „oksidativni i nitrozacioni stres“ (O&NS). Nastaju zbog prekomernog nakupljanja ROS i RNS, poremećaja ravnoteže u sintezi prooksidanasa (ROS i RNS) i/ili neadekvatne reakcije molekula iz sistema antioksidativne odbrane, koji treba da ih uklone.

Tokom nitrozacionog stresa, sintetisan u prekomernim količinama, azot-monoksid se ponaša kao otrov, jer dovodi do promena brojnih telesnih molekula (Maes i sar., 2011), u smislu oksidativnog oštećenja membranskih lipida, DNK molekula i proteina. Navedene promene su suštinske, jer izmenjeni molekuli menjaju i funkcije, što doprinosi razvoju čitavog spektra oštećenja (Shema 4), koja vode u nastanak najrazličitijih bolesti: vaskularnog kolapsa udruženog sa septičkim šokom, reumatoidnih i inflamatornih eritropatija (Pinto i sar., 2008; Maes i sar., 2011; Božić i sar., 2012 in press), cerebralnih oštećenja nakon šoka, zapaljenjskih procesa, različitih neurodegenerativnih oboljenja (Maes i sar., 2011) i sl. Iako ishemičan miokard proizvodi azot-monoksid iz nitrita, verovatno zato što mu je potreban kao vazodilatator, prekomerna sinteza NO često prouzrokuje oštećenje miokarda i gubitka kontraktilne funkcije (Zweier i Talukder, 2006). Hronično povećane koncentracije azot-monoksida udružene su sa razvojem različitih vrsta karcinoma, sa početnim stadijumima dijabetesa melitusa, multiskleroze, artritisa i ulceroznog kolitisa (Tylor i sar., 1997; Hou i sar., 1999; Keaney, 2005; Singh, 2005; 2006; Božić i sar., 2012 in press). Oštećenja tokom oksidativnog i nitrozilacionog stresa, takođe mogu dovesti do razvoja autoimuskog odgovora (Maes i sar., 2011).

Uopšteno govoreći, smatra se da danas gotovo da ne postoji bolest koja, preko nekog regulatornog puta, nije povezana sa azot-monoksidom! Iako je poznato da se štetan efekat NO[•] poništava pomoću O₂^{•-}, a stabilizuje pomoću SOD (Goldstein i sar., 1996; Evereklioglu i sar., 2003), što omogućava eliminaciju

oba radikala, zabrinjava činjenica što do danas nisu nađena terapijska sredstva koja bi uspešno sanirala ovakve pojave (Wimalawansa, 2008).



Shema 4. Prikaz nekih oštećenja tokom razvoja oksidativnog i nitrozilacionog stresa
Scheme 4. Graphic of some damages during the development of oxidative and nitrosative stress

Zaključak / Conclusion

Azot-monoksid je veoma korisno jedinjenje jer učestvuje u nizu fizioloških procesa, kao što su: prenos nervnih signala, regulacija relaksacije glatkomišićnih tkiva, odvijanje peristaltičkih pokreta, imunomodulacija, aktivacija mastocita, razvoj zapaljenjske reakcije, regulacija apoptoze, angiogeneze i metabolizma glukoze, normalno funkcionisanje srca i antioksidantna uloga. Međutim, azot-monoksid može da bude i veoma štetan, zato što poseduje nespareni elektron pa podleže oksidaciji i postaje stabilan slobodni radikal. Brzo reaguje sa superoksid-anjon radikalom, dajući peroksinitritnu kiselinu. Ona oštećuje mnoge makromolekule tako što izaziva: oksidaciju tiolnih grupa, nitrozilovanje tirozina i fenil-alanina, oksidaciju lipida, cepanja lanaca DNK, nitrovanje i dezaminaciju nukleinskih baza. Navedena oštećenja makromolekula vode u seriju nepoželjnih promena kojima se remeti njihova funkcija, a time se narušava i funkcionalnost ćelija, tkiva, pa i organa. Smatra se da gotovo ne postoji bolest koja, preko nekog regulatornog puta, nije povezana sa dejstvom azot-monoksida.

ZAHVALNICA / ACKNOWLEDGEMENTS:

Rezultati rada su deo naučno-istraživačkih projekata u oblasti osnovnih istraživanja, evidencioni broj: 173034 i 31085, finansiranih od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

Literatura / References

1. Alemayehu A, Lock KR, Coatney RW, Chou CC. L-NAME, nitric oxide and jejunal motility, blood flow and oxygen uptake in dogs. *Br J Pharmacol* 1994; 111: 205-12.
2. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial cell injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1620-4.
3. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures, *Physiol Rev* 1998; 78: 547-81.
4. Božić T, Stevanović J, Borozan S, Jović S, Dimitrijević B, Ignjatović I. Uticaj oksidativnog stresa na razvoj bolesti. *Vet glasnik* 2012; in press.
5. Burnett AL. Nitric oxide control of lower genitourinary tract functions: a review. *Urology* 1995; 45: 1071-83.
6. Cassina A, Radi R. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Arch Biochem Biophys* 1996; 28(2): 309-16.
7. Coleman JW. Nitric oxide: a regulator of mast cell activation and mast cell-mediated inflammation. *Clin Exp Immunol* 2002; 129: 4-10.
8. Culotta E, Koshland DE. "NO news is good news. (nitric oxide; includes information about other significant advances & discoveries of 1992) (Molecule of the Year)". *Science* 258 (5090): 1862-4.
9. Eu JP, Sun J, Xu L, Stamler JS, Meissner G. The skeletal muscle calcium release channel: coupled O₂ sensor and NO signaling functions. *Cell* 2000; 102: 499-509.
10. Evereklioglu C, Hamdi E, Doganay S, Cekmen M, Turkoz Y, Otlu B, Ozerol E. Nitric oxide and lipid peroxidation are increased and associated with decreased antioxidant enzyme activities in patients with age-related macular degeneration. *Documenta Ophthalmologica* 2003; 106: 129-36.
11. Finkel T. Oxidant signals and oxidative stress. *Current Opinion in Cell Biology* 2003; 15: 247-54.
12. Frank S, Kampfer H, Wetzler C, Pfeilschifter J. Nitric oxide drives skin repair: Novel functions of an established mediator. *Kidney Int* 2002; 61: 882-8.
13. Goldstein IM, Ostwald P, Roth S. Nitric oxide: a review of its role in retinal function and disease. *Vision Res* 1996; 36: 2979-94.
14. Holthusen H, Ding Z. Nitric oxide is not involved in vascular nociception of noxious physical stimuli in humans. *Neurosci Lett* 1997; 227(2): 111-4.
15. Hou YC, Janczuk A, Wang PG. Current trends in the development of nitric oxide donors. *Curr Pharm Des* June 1999; 5(6): 417-71.
16. Ischiropoulos H. Biological tyrosine nitration: a pathophysiological function of nitric oxide and reactive oxygen species. *Arch Biochem Biophys* 1998; 356(1): 1-11.
17. Isenovic E, LaPointe M. Role of Ca⁺⁺ phospholipase A2 on regulation of inducible nitric oxidesynthase. *Hypertension* 2000; 35: 249-54.
18. Jović S, Aleksić J, Krsić A, Stevanović J, Kovačević Filipović M, Borozan S, Božić T, Popović D. A study on oxidative stress and complete blood count of sheeps breed in the area exposed to depleted uranium (du) ammunition. *Acta Veterinaria* 2009; 59(5-6): 481-8.
19. Jović S, Stevanović J, Borozan S, Trailović D. The development of oxidative stress in different types of physical activities of racehorses. Proceedings the thirteen regional symposium in animal clinical pathology and therapy. *Clinica Veterina-*

- ria, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Subotica, Serbia, 16-18. Jun 2011: 97-102.
20. Jović S, Stevanović J, Borozan S, Trailović D. The role of nitric-oxide during exercise in racing horses. Horseville Science and Profession, First Regional Symposium "Breeding, reproduction and health care horses", Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Novi Sad, Serbia, 1-3. October 2010: 92-101.
 21. Keaney JF. Oxidative stress and the vascular wall: NADPH oxidases take center stage. *Circulation* 2005; 112: 2585-858.
 22. Kheradmand F, Werner E, Tremble P, Symons M, Werb Z. Role of Rac1 and oxygen radicals in collagenase-1 expression induced by cell shape change. *Science* 1998; 280: 898-902.
 23. Kim PK, Zamora R, Petrosko P, Billiar TR. The regulatory role of nitric oxide in apoptosis. *Int Immunopharmacol* 2001; 1: 1421-41.
 24. Ledwozyw A, Stolarczyk H. The involvement of polymorphonuclear leukocytes in the pathogenesis of bronchopneumonia in calves. VI. Superoxide dismutase and lipoprotein lipase activities. *Acta Vet Hung* 1992; 40(4): 267-77.
 25. Lin JK, Chen KJ, Liu GY, Chu YR, Lin-Shiau SY. Nitration and hydroxylation of aromatic amino acid and guanine by the air pollutant peroxyacetyl nitrate. *Chemico-Biological Interactions* 2000; 127(3): 219-36(18).
 26. MacMicking JD, Nathan C, Hom G, Chartrain N, Fletcher DS, Trumbauer M, Stevens K, Xie QW, Sokol K, Hutchinson N et al. Altered responses to bacterial infection and endotoxic shock in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Cell* 1995; 81(4): 641-50.
 27. Maes M, Galecki P, Chang YS, Berk M. A review on the oxidative stress and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative process in the illness. *Progress in neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2011; 35: 676-92.
 28. Mayer B, Hemmens B. Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. *Trends Biochem Sci* 1997; 22(12): 477-81.
 29. McCleverty JA. Chemistry of Nitric Oxide Relevant to Biology. *Chem Rev* 2004; 104, 403-18.
 30. McKnight GM, Smith LM, Drummond RS, Duncan CW, Golden M, Benjamin N. Chemical synthesis of nitric oxide in the stomach from dietary nitrate in humans. *Gut* 1997; 40(2): 211-4.
 31. Moncada S, Higgs A. Mechanisms of disease - the L-arginine nitric oxide pathway. *N Eng J Med* 1993; 329.
 32. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43(2): 109-42.
 33. Muijsers RB, Folkerts G, Henricks PA, Sadeghi-Hashjin G, Nijkamp FP. Peroxynitrite: a two-faced metabolite of nitric oxide. *Life Sci* 1997; 60: 1833-45.
 34. Mungrue IN, Bredt DS, Stewart DJ, Husain M. From molecules to mammals: what's NOS. *Acta Physiol Scand* 2003; 179: 123-35.
 35. Ohmori H, Kanayama N. Immunogenicity of an inflammation-associated product, tyrosine nitrated self-proteins. *Autoimmun Rev* 2005; 4(4): 224-9.
 36. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007; 87(1): 315-424.

37. Pinto VL, Brunini TM, Ferraz MR, Okinga A, Mendes-Ribeiro AC. Depression and cardiovascular disease: role of nitric oxid. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2008; 6(2): 142-9.
38. Roberts CK, Barnard RJ, Scheck SH, Balon TW. Exercise-stimulated glucose transport in skeletal muscle is nitric oxide dependent. *Am J Physiol* 1997; 273: E220-5.
39. Rubbo H, Radi R, Trujillo M, Telleri R, Kalyanaraman B, Barnes S. Nitric oxide regulation of superoxide and peroxyxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *J Biol Chem* 1994; 269: 26066-75.
40. Sarkar R, Webb RC. Does nitric oxide regulate smooth muscle cell proliferation? *J Vasc Res* 1998; 35: 135-42.
41. Singh U, Devaraj S, Jialal I. Vitamin E, oxidative stress and inflammation. *Annu Rev Nutr* 2005; 25: 151-74.
42. Singh U, Ishwarlal J. Oxidative Stress and Metabolic diseases. *Pathophysiology* 2006; 13(3): 129-42.
43. Sozmen EY, Kerry Z, Uysal F, Yetik G, Yasa M, Ustünes L, Onat T. Antioxidant enzyme activities and total nitrite/nitrate levels in the collar model. Effect of nicardipine. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38(1): 21-5.
44. Stamler JS, Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol Rev* 2001; 81(1): 209-37.
45. Stark ME, Szurszewski JH. Role of nitric oxide in gastroin-testinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology* 1992; 103: 1928-49.
46. Stevanović J, Borozan S, Jović S, Ignjatović I. Fiziologija slobodnih radikala. *Vet glasnik* 2011; 58(1-2): 43-54.
47. Stevanović J, Kovačević-Filipović M, Vlaški M, Popović D, Borozan S, Jović S, Božić T. A study on oxidative stress and peripheral blood parameters of cows bred in the area exposed to depleted uranium ammunition. *Acta Veterinaria* 2005; 55(4): 269-78.
48. Taddei S, Viridis A, Ghiadoni L, Salvetti A. Endothelial dysfunction in hypertension: Fact or fancy? *J Cardiovasc Pharmacol Suppl* 1998; 3: 41-8.
49. Thaler CD, Epel D. Nitric Oxide in Oocyte Maturation, Ovulation, Fertilization, Cleavage and Implantation: A lit-tle dab'll do ya. *Curr Pharm Des* 2003; 9: 399-409.
50. Tylor BS, Kion YM, Wang QI, Sharpio RA, Billiar TR, Geller DA. Nitric oxide down regulates hepatocyte-inducible nitric oxide synthase gene expression. *Arch Surg* 1997; 1(32): 1177-82.
51. Wimalawansa SJ. Nitric oxide: new evidence for novel therapeutic indications. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9(11): 1935-54.
52. Wink DA, Miranda KM, Espey MG. Cytotoxicity related to oxidative and nitrosative stress by nitric oxide. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001; 226(7): 621-3.
53. Xu J, He L, Ahmed SH, Chen SW, Goldberg MP, Beckman JS, Hsu CY. Oxygen-glucose deprivation induces inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine expression in cerebral endothelial cells. *Stroke* 2000; 31: 1744-51.
54. Ziche M, Morbidelli L. Nitric oxide and angiogenesis. *J Neurooncol* 2000; 50: 139-48.
55. Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2006; 70(2): 181-90.

ENGLISH

USEFUL AND HARMFUL EFFECTS OF NITRIC OXIDE

**S. Jović, Jelka Stevanović, Sunčica Borozan, B. Dimitrijević, Svetlana Fišter,
Jelena Aleksić**

In living systems synthesis of nitric oxide occurs during metabolism from L-arginin, nitrite and ascorbate. Being very significant carrier of information within numerous both physiological and pathological processes in mammals' organisms, nitric oxid could possibly be useful as well as harmful.

Nitric oxide synthesis is adjuvant in a healthy organism because it represents the basic molecule for understanding numerous processes in neurology, psychology, immunology and various related fields. In other words, nitric oxide participate in number of physiological processes, such as: transmission of nerve signals (neurotransmitter role), regulation of smooth muscle tissue relaxation (eg. vasodilatation), peristaltic movements, immunomodulation, mastocyte activation, development of inflammatory response, apoptosis regulation, angiogenesis and glucose metabolism, normal heart functioning and anti-oxidation role.

Besides being useful, nitric oxide can be harmful as well, because it has one unpaired electron, so consequently it is susceptible to oxidation becoming a stable free radical. Being such, it reacts quickly with superoxide-anion radical, giving at first an extremely reactive peroxynitrite anion, and subsequently peroxynitrite acid. This acid is very dangerous causing thiol groups oxidation, tyrosine and phenylalanine nitrosylation, lipid oxidation, DNA chain splitting, nitrication and nucleic bases deamination. These damages of macromolecules can cause a series of undesirable changes which subsequently disturb functions of molecules, and thus of cells, tissues and even organs.

Key words: nitric oxid, nitrosative stress, proteins, lipids.

РУССКИЙ

ПОЛЕЗНЫЕ И ВРЕДНЫЕ ЭФФЕКТЫ МОНОКСИДА АЗОТА

**С. Јович, Јелка Стеванович, Сунчица Борозан, Б. Димитриевич,
Светлана Фиштер, Елена Алексич**

В живых системах синтеза монооксида азота производится в процессе метаболизма из L-арганина, нитритов и аскорбата. Имея в виду, что это важный носитель информации в многих физиологических, но и патологических процессов в организме млекопитающих, монооксид азота может быть полезным и вредным.

Синтез монооксида азота в здоровом организме желателен, потому что является одним из основных молекул для понимания многих процессов в неврологии, психологии, иммунологии и в других областях. Монооксид азота участвует во многих физиологических процессах, таких как: передача нервных сигналов (роль нейромедиатора), регулирование релаксации гладкой мышечной ткани (например, расширение кровеносных сосудов), развитие перистальтических движений, иммуномодуляция, активация тучных клеток, развитие воспалительного ответа, регу-

ляция апоптоза, ангиогенез и метаболизм глюкозы, нормальное функционирование сердца и антиоксидантная роль.

Помимо того, что полезен, монооксид азота также может быть вредным, поскольку он имеет неспаренный электрон он подвержен окислению и становится стабильным свободным радикалом. Он быстро реагирует с супероксидным анион-радикалом, при чем сначала образуется пероксинитрит-анион, который отличается высокой реакционной способностью, а потом образуется и пероксинитритная кислота. Это очень опасно, так как приводит к: окислению тиоловых групп, азотированию тирозина и фенилаланина, окислению липидов, расщеплению ДНК, азотированию и деаминации нуклеиновых оснований. Эти повреждения макромолекул иногда вызывают нежелательные изменения, которые нарушают функцию молекул и, в том числе, клеток, тканей и даже органов.

Ключевые слова: монооксид азота, нитрозативный стресс, белки, липиды

