

## NITRIC OXIDE (NO) – A UNIVERSAL REGULATOR OF AN ORGANISM'S VITAL PROCESSES AT THE CELLULAR LEVEL

## TLENEK AZOTU (NO) – UNIWERSALNY REGULATOR PROCESÓW ŻYCIOWYCH ORGANIZMU NA POZIOMIE KOMÓRKOWYM

Agnieszka Pedrycz<sup>1)</sup>, Piotr Siermontowski<sup>2)</sup>, Alicja Ciechan<sup>3)</sup>, Marcin Orłowski<sup>4)</sup>, Grzegorz Zajac<sup>5)</sup>

- <sup>1)</sup> Histology and Embryology Department with the Experimental Cytology Laboratory of Medical University in Lublin  
<sup>1)</sup> Katedra i Zakład Histologii i Embriologii z Pracownią Cytologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
<sup>2)</sup> Maritime and Hyperbaric Medicine Department, Military Institute of Medicine, Gdynia  
<sup>2)</sup> Zakład Medycyny Morskiej i Hiperbarycznej Wojskowego Instytutu Medycznego w Gdyni  
<sup>3)</sup> Provincial Emergency Service Autonomous Healthcare Center in Lublin  
<sup>3)</sup> Wojewódzkie Pogotowie Ratunkowe Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej w Lublinie  
<sup>4)</sup> Centrum of Diagnosis and Therapy of Digestive System's Diseases, Gdansk  
<sup>4)</sup> Centrum Diagnostyki i Leczenia Chorób Układu Pokarmowego w Gdańsku  
<sup>5)</sup> Department of Rehabilitation, Provincial Specialist Hospital in Chelm  
<sup>5)</sup> Zakład Rehabilitacji, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Chełmie

### ARTICLE INFO

Journal: PolHypRes 2013 Vol. 43 Issue 2 pp. 93 – 103

ISSN: 1734-7009

eISSN: 2084-0535

DOI: HTTP://DX.DOI.ORG/10.13006/PHR.43.5

Pages: 10, figures: 0, tables: 0

page www of the periodical: www.phr.net.pl

### Keywords/Słowa kluczowe:

(in English): nitric oxide, peroxyxynitrite, cell, L-arginine

(in Polish): tlenek azotu, nadrtlenek azotu, komórki, L-arginina

### Polish-English bilingual publication

#### Publisher

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

### ABSTRACT

(in English)

At the present time, seven types of nitrogen oxide have been discovered and defined: Nitrogen oxide (I) (N<sub>2</sub>O) – nitrous oxide, also known as a laughing gas, Nitric oxide (II) (NO) – nitrogen monoxide, Nitrogen oxide (III) (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), Nitrogen oxide (IV) (NO<sub>2</sub>) – nitrogen dioxide which may produce a dimer – N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> – dinitrogen tetroxide, Nitrogen oxide (V) (N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) – dinitrogen pentoxide, Nitrogen oxide (VI) (NO<sub>3</sub>) nitrogen trioxide – nitrate radical of a strong oxidizing effect, Nitrogen oxide (VII) (N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) – dinitrogen hexoxide – an unstable compound with a peroxide bond O<sub>2</sub>N-O-O-NO<sub>2</sub>. Of the above compounds the one that is of the greatest significance from the point of view of medicine is nitric oxide (NO), hence it is the main focus of this work.

(in Polish)

Do chwili obecnej odkryto i opisano 7 tlenków azotu: Tlenek azotu (I) (N<sub>2</sub>O)- podtlenek azotu, tlenek di azotu, inaczej zwany gazem rozweselającym, Tlenek azotu (II) (NO) - monotlenek azotu, Tlenek azotu (III) (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), Tlenek azotu IV (NO<sub>2</sub>) - dwutlenek azotu, który może tworzyć dimer- N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> - czterotlenek azotu, Tlenek azotu (V) (N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) - pięcioletek di azotu, Tlenek azotu (VI) (NO<sub>3</sub>) trójtlenek azotu- rodnik azotanowy o silnym działaniu utleniającym, Tlenek azotu (VII) (N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>)- sześciotlenek azotu - nietrwały związek z wiązaniem nadrtlenkowym O<sub>2</sub>N-O-O-NO<sub>2</sub>. W medycynie największe znaczenie ma monotlenek azotu (NO) i jemu poświęcona jest niniejsza praca.

The summary in Russian on end of the publication

### WSTĘP

Tlenek azotu (NO-nitric oxide) został odkryty w 1970 roku, jak związek chemiczny, przez Josepha Priestley'a [Maleck i wsp. 2005]. Od tej pory powstało wiele prac nad biochemią NO. W 1992 tlenek azotu okrzyknięty został cząstką roku, co opublikowano w czasopiśmie „Nature”. W 1998 roku Robert F. Furchgott, Louis Ignarro i Ferid Murad [De Berrazueta 1999] otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny za prace nad ciągiem przemian metabolicznych: L-arginina → NO.

Termin tlenek azotu zgodnie z nazewnictwem chemicznym oznacza monotlenek azotu, ale może też oznaczać dowolny z tlenków azotu lub ich mieszaninę. Obecnie wyróżnia się siedem form tlenku azotu:



- Tlenek azotu (I) (N<sub>2</sub>O)- podtlenek azotu, tlenek di azotu, inaczej zwany gazem rozweselającym,
- Tlenek azotu (II) (NO)- monotlenek azotu,
- Tlenek azotu (III) (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>),
- Tlenek azotu IV (NO<sub>2</sub>)- dwutlenek azotu, który może tworzyć dimer- N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>- czterotlenek azotu,
- Tlenek azotu (V) (N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)- pięcioletek diazotu,
- Tlenek azotu (VI) (NO<sub>3</sub>) trójtlenek azotu- rodnik azotanowy o silnym działaniu utleniającym,
- Tlenek azotu (VII) (N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) - sześciotlenek azotu - nietrwały związek z wiązaniem nadtlennym O<sub>2</sub>N-O-O-NO<sub>2</sub> [Durant i wsp. 1965].

W medycynie największe znaczenie ma monotlenek azotu (NO). Tlenek azotu jest gazem nietrwałym, bezbarwnym, bardzo reaktywnym, mogącym w reakcji z powietrzem tworzyć trujący dwutlenek azotu (NO<sub>2</sub>).

Tlenek azotu jest wielokierunkowym regulatorem różnych procesów, zachodzących w żywych organizmach.

U ludzi produkowany jest on przez komórki śródbłonka, makrofagi, hepatocyty, zakończenia nerwowe i niektóre neurony [Garthwaite i wsp. 2005], neutrofile, monocyty, mastocyty i płytki krwi [Rytlewski i wsp. 2001]. W organizmie łatwo utlenia się do azotynu NO<sub>2</sub>, który przechodzi z kolei w azotan i jako ostateczny metabolit NO jest wydalany z moczem. NO produkowany jest z L-argininy, z jej grupy guanidynowej, przy udziale enzymu-syntazy tlenku azotu (NOS), inaczej zwaną digoksygenazą [Furghott 1999; Korbut i wsp. 1989]. Reakcja ta przebiega dwuetapowo. W jej wyniku L-arginina jest utleniana, przy czym źródłem elektronów jest NADPH, zaś produktami L-cytrulina i NO



L-arginina może zostać zresyntetyzowana w komórkach śródbłonka z kwasu L-asparaginowego, co może zostać zahamowane przez kwas L-glutaminowy.

Syntezę NO w komórkach limituje dostępność wewnątrzkomórkowej argininy i kofaktorów reakcji. NO może również powstawać w organizmie w wyniku redukcji azotynów i jest to droga syntezy niezależna od działania NOS. Dziennie zdrowy człowiek może wytworzyć około 1 mmol endogennego tlenku azotu (Tong i wsp. 2004).

Obecnie wyróżnia się pięć izoform syntazy tlenku azotu:

- Mózgowa (neuralna)- bNOS, nNOS, NOS-3
- Śródbłonkowa- eNOS, NOS-1
- Makrofagowa- macNOS
- Hepatocytarna- hepNOS
- Mitochondrialna- mtNOS [Kanai i wsp. 2004]

Izoformy śródbłonkowa i mózgowa są izoformami konstytucjonalnymi (cNOS), zaś hepatocytarna i makrofagowa są indukowane przez procesy immunologiczne (iNOS). Ta izoforma pojawia się w komórkach tylko po ekspresji ich genów, katalizuje syntezę NO tak długo, aż do wyczerpania zapasów L-argininy [Stuehr i wsp. 1985].

Typy syntazy NO różnią się masą cząsteczkową, lokalizacją w komórce i wymaganiami co do kofaktorów. Ich ekspresja podlega odmiennej regulacji

Izoenzymy nNOS i eNOS są konstytutywnie wytwarzane tylko w niektórych komórkach organizmu, m.in. w neuronach, płytkach, komórkach śródbłonka naczyń, miocytach. iNOS jest enzymem indukowanym w większości komórek (Mungrue i wsp. 2003).

Regulacja aktywności nNOS i eNOS odbywa się na poziomie aktywacji. Są one zależne od kompleksów kalmodulina-jony wapnia (Rytlewski i wsp. 2001). Endogenne i egzogenne substancje, które zwiększają stężenie jonów wapnia w komórkach (np. bradykinina, acetylocholina, histamina, serotonina, trombina, czynnik aktywujący płytki krwi i inne) aktywują syntezę NO (Raghavan i wsp. 2004).

## INTRODUCTION

Nitric oxide (NO) was discovered in 1970 by Joseph Priestley [Maleck and others 2005]. From that time numerous works on NO biochemistry have been published. In 1992 nitric oxide was acclaimed the molecule of the year, the fact published in *Nature* magazine. In 1998 Robert F. Furchgott, Louis Ignarro and Ferid Murad [De Berrazueta 1999] were awarded the Nobel Prize in medicine for works on metabolic changes in the sequence: L-arginine → NO.

According to chemical terminology the name 'nitric oxide' means nitrogen monoxide but it may also stand for any of the nitrogen oxides or their mixes. At present we distinguish seven forms of nitrogen oxide:

- Nitrogen oxide (I) (N<sub>2</sub>O) – nitrous oxide, also known as a laughing gas,
- Nitrogen oxide (II) (NO) – nitrogen monoxide,
- Nitrogen oxide (III) (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>),
- Nitrogen oxide IV (NO<sub>2</sub>) – nitrogen dioxide that may produce a dimer - N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> – dinitrogen hexoxide,
- Nitrogen oxide (V) (N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) – dinitrogen pentoxide,
- Nitrogen oxide (VI) (NO<sub>3</sub>) – nitrogen trioxide – a nitrate radical of a strong oxidizing effect,
- Nitrogen oxide (VII) (N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) – dinitrogen hexoxide – an unstable compound with a peroxide bond O<sub>2</sub>N-O-O-NO<sub>2</sub> [Durant and others 1965].

Of the above, the most significant compound for medicine is nitric oxide (NO).

Nitric oxide is an unstable, colourless and extremely reactive gas that in a reaction with air may produce poisonous nitrogen dioxide (NO<sub>2</sub>).

Nitric oxide is a multidirectional regulator of various processes taking place in living organisms.

In humans it is produced by the cells of the endothelium, macrophages, hepatocytes, nerve endings and some neurons [Garthwaite and others 2005], neutrophils, monocytes, mastocytes and blood platelets [Rytlewski and others 2001]. In an organism it easily oxidizes to nitrite NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, which, on the other hand, turns into nitrate and, as the final NO metabolite, is extracted with the urine. NO is produced from L-arginine, its guanidine group, in the presence of nitric oxide synthase enzyme (NOS), also known as dioxygenase [Furchgott 1999; Korbout and others 1989]. The reaction occurs in two phases. As its result L-arginine is oxidized, the electron source is NADPH, whereas the products are L-citrulline and NO:



L-arginine may be resynthesized in the endothelial cells from L-aspartic acid, which may be inhibited by L-glutamic acid.

NO synthesis in cells is limited by the presence of intracellular arginine and reaction cofactors. NO may also be produced in an organism as a result of nitrite reduction, i.e. take the synthesis path independent of NOS activity. A healthy human organism is capable of producing the daily dose of ca. 1 mmol of endogenous nitric oxide (Tong and others 2004).

At present we distinguish five nitric oxide synthase isoforms:

- Neuronal – bNOS, nNOS, NOS-3
- Endothelial – eNOS, NOS-1
- Macrophagous – macNOS
- Hepatocytic – hepNOS
- Mitochondrial – mtNOS [Kanai and others 2004]

Indukowalne izoformy syntazy NO (iNOS) występują zarówno w cytozolu, jak i błonach wielu komórek m.in. makrofagów, neutrofilów, komórek Kupfera, hepatocytów, astrocytów, również w komórkach śródbłonka i mięśniówki gładkiej naczyń krwionośnych. Regulacja ich aktywności odbywa się przede wszystkim na poziomie ekspresji ich genów. Izoformy te związane są z enzymem kalmoduliną i nie wymagają do swej aktywności jonów wapnia. Ich ekspresję indukują cytokiny (TNF- $\alpha$ , IL-1) oraz endotoksyny (lipopolisacharydy bakteryjne) (Lee i wsp. 2003, Mungrue i wsp. 2003, Rytlewski 2001.).

Izoformy konstytucjonalne są stale obecne w komórkach. Katalizowana przez nie synteza tlenu azotu jest krótkotrwała i pulsacyjna, doprowadzająca do powstania niskich stężeń NO. Izoformy indukowalne nie są obecne w komórkach dopóki nie nastąpi ekspresja ich genów. Synteza NO odbywa się przez długi czas w dużych stężeniach. Aktywność tych izoform trwa do czasu dostępności L-argininy [Stuehr i wsp. 1985].

Mitochondria same potrafią produkować NO za pomocą izoenzymu mtNOS zlokalizowanego w wewnętrznej błonie białkowo-lipidowej oraz aktywowanego przez jony wapnia. NO wiążąc się z enzymem, oksydazą cytochromu c wpływa na regulację oddychania mitochondrialnego obniżając jego intensywność [Giulivi i wsp. 2006].

Mechanizm działania NO polega na aktywacji cyklicznej guanylowej, która przekształca GTP do cGMP oraz S-nitrozylacji białek. cGMP aktywuje zależne od siebie fosfodiesterazy i kinazy oraz kanały jonowe. [Raghavan i wsp. 2004, Moncada i wsp. 1991]. S-nitrozylacja białek polega na połączeniu powstałego w wyniku utleniania tlenu azotu, reaktywnego jonu nitrozoniowego z grupą sulfhydrylową cysteiny, jednego z aminokwasów budujących białka. W ten sposób powstają białka zwane S-nitrozotiolami. Są to głównie S-nitrozoalbumina, S-nitrozohemoglobina, S-nitrozoglutation.

Ze względu na swoją stabilność pełnią one funkcje magazynowania i transportowania tlenu azotu w organizmie. Utlenianie tioli prowadzi do zmniejszenia puli naturalnych antyoksydantów, np. glutationu. S-nitrozoalbumina i S-nitrozoglutation wykazują zdolność rozszerzania naczyń krwionośnych i hamowania agregacji płytek krwi. S-nitrozoglutation spełnia również istotną rolę w przekazywaniu sygnałów i obronie komórek przed atakiem patogenów (Foster i wsp. 2003).

Tlenek azotu uczestniczy w organizmach żywych w wielu procesach fizjologicznych i patologicznych. Bierze udział w regulacji napięcia mięśni gładkich, współdziała w eliminacji drobnoustrojów chorobotwórczych, wpływa na funkcje układu nerwowego i endokrynnego. Jego rola w ustroju zależna jest od izoformy, przez którą oddziałuje.

Nadmiar lub niedobór NO może być przyczyną rozwoju wielu chorób. Nadprodukcja tlenu azotu może doprowadzić m.in. do: miażdżycy, chorób zwyrodnieniowych układu nerwowego, zapaleń, chorób autoimmunologicznych i nowotworowych. Natomiast niedobór endogennego NO może być przyczyną rozwoju nadciśnienia tętniczego w przebiegu zatrucia ciężarowego, miażdżycy tętnic i hipercholesterolemii [Rytlewski i wsp. 2001].

Pozytywne aspekty działania NO wykorzystuje się w leczeniu gestozy ciężarnych, choroby wieńcowej serca, miażdżycy kończyn dolnych, a także w niektórych nowotworach [Brüne i wsp. 1999]. Wykorzystuje się także jego działanie antyagregacyjne, zmniejszające adhezję trombocytów do ścianek naczyń, zmniejszające aktywność plazminogenu i odkształcalność erytrocytów oraz powstrzymujące przebudowę ścian naczyń [Radomski i wsp. 1987].

Tlenek azotu działając na układ krążenia wywołuje rozszerzenie naczyń krwionośnych, hamuje agregację trombocytów i ich adhezję do śródbłonka. W układzie nerwowym pełni funkcję regulatora miejscowego przepływu krwi oraz wielu procesów.

NO działa p-zapalnie poprzez produkcję prostaglandyn. Bierze udział w odpowiedzi immunologicznej, obronie przeciwbakteryjnej i przeciwwirusowej. Wykazano także, że NO aktywuje układ fibrynolityczny, prawdopodobnie przez zahamowanie uwalniania aktywatora plazminogenu z płytek krwi.

Endothelial and neuronal isoforms are constitutional isoforms (cNOS), whereas hepatocytic and macrophagous isoforms are induced by immunological processes (iNOS). Such isoforms appear in cells only after their gene expression and catalyse NO synthesis until L-arginine reserves are exhausted [Stuehr and others 1985].

NO synthase types differ with regard to their molecular mass, their location in a cell and cofactor requirements. Their expression is subjected to a different regulation.

The nNOS and eNOS isoenzymes are constitutively produced only in some cells in the organism, including the neurons, platelets, endothelial vessel cells, myocytes. iNOS is an enzyme induced in most cells (Mungrue and others 2003).

The regulation of nNOS and eNOS activity occurs at the activation level. They are dependent on calmodulin-calcium ions complexes (Rytlewski and others 2001). Endogenous and exogenous substances that increase the concentration of calcium ions in the cells (e.g. bradykinin, acetylcholine, histamine, serotonin, thrombin an agent activating blood platelets, and others) activate NO synthesis (Raghavan and others 2004).

Inducible isoforms of NO synthase (iNOS) occur both in cytosol and in the membranes of numerous cells, including macrophages, neutrophils, Kupffer cells, hepatocytes, astrocytes, as well as in the cells of the endothelium and the smooth muscle tissue of blood vessels. Their activity regulation takes place mainly at the level at their gene expression. Such isoforms are related to calmodulin enzyme and their activity does not require calcium ions. Their expression is induced by cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1) and endotoxins (bacterial liposaccharides) (Lee and others 2003, Mungrue and others 2003, Rytlewski 2001).

Constitutional isoforms are permanently present in cells. Nitric oxide synthesis catalysed by them is short and pulsatile and results in the production of low NO concentrations. Inducible isoforms, on the other hand, do not occur in cells until their gene expression. NO synthesis occurs over a long period of time and in high concentrations. The activity of such isoforms is continued as long as L-arginine is available [Stuehr and others 1985].

Mitochondria can produce NO by themselves with the use of mtNOS isoenzyme localized in the internal protein-lipid membrane and activated by calcium ions. By combining with the enzyme, cytochrome c oxidase, NO affects the regulation of mitochondrial respiration and reduces its intensity [Giulivi and others 2006].

The activity mechanism of NO relies on the activation of guanylate cyclase which transforms GTP into cGMP as well as protein S-nitrosation. cGMP activates the dependent phosphodiesterases and kinases as well as ion channels [Raghavan and others 2004, Moncada and others 1991]. Protein S-nitrosation is based on the combination of nitric oxide produced as a result of oxidation, reactive nitronium ion and the sulphhydryl group of cysteine, one of the amino acids present in the protein structure. This leads to the creation of proteins known as S-nitrosothiols. They main S-nitrosothiols include S-nitrosoalbumin, S-nitrosohemoglobin, S-nitrosoglutathione. With regard to their stability their function is concerned with the storage and transportation of nitric oxide in the organism. Thiol oxidation causes a reduction of the number of natural antioxidants, such as glutathione. S-nitrosoalbumin and S-nitrosoglutathione have a capability of widening blood vessels and inhibiting the aggregation of the blood platelets. S-nitrosoglutathione also plays an important role in signal transmission and cell defence against pathogen attack (Foster and others 2003).

Nitric oxide participates in numerous physiological and pathological processes occurring in living organisms. It takes part in smooth muscle tension regulation, cooperates in the elimination of microbes, and affects the functioning of the nervous and endocrine systems. Its role in an organism depends on an isoform through which it acts.

While working in the circulatory system, nitric oxide causes the blood vessels to widen and inhibits the aggregation of thrombocytes and their adhesion to the endothelium. In the nervous system it serves as a regulator of local blood flow and numerous other processes.

Od chwili wykrycia przez Gustafssona, że NO występuje również w powietrzu wydychanym, bardzo wzrosło zainteresowanie rolą tego związku w chorobach układu oddechowego (Bates i wsp. 2003). NO w obrębie układu oddechowego rozszerza mięśnie gładkie oskrzeli oraz wywiera wpływ na wydzielanie śluzu i czynność aparatu rząskowego. Dodatkowo obniżenie napięcia mięśni gładkich naczyń krwionośnych poprawia natlenowanie płuc. Wyniki wielośrodkowych badań nad zastosowaniem inhalacji NO u chorych noworodków wskazują na wyraźną poprawę wentylacji płuc i perfuzji. Odnotowano także spadek umieralności noworodków i zmniejszenie występowania przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (Kostka-Trąbka 2002).

Nadprodukcji endogennego NO przypisuje się udział w patogenezie wielu chorób, m.in. chorób zwyrodnieniowych układu nerwowego, chorób autoimmunologicznych, zapaleń, nowotworów. Niedobór NO towarzyszy m.in. nadciśnieniu tętniczemu, hipercholesterolemii, preeklampsji (Rytlewski i wsp. 2001).

W przeprowadzanych badaniach wykryto, że wytwarzanie NO jest zmniejszone u chorych z nadciśnieniem indukowanym ciążą w stosunku do ciężarnych z prawidłowym ciśnieniem krwi. Nie uzyskano jednak jednoznacznego potwierdzenia zmiany jego stężenia we krwi (Kharfi i wsp. 2003).

Ponadto stwierdzono, że istotnym czynnikiem zmniejszającym aktywność NO jest podwyższone stężenie inhibitorów jego syntazy obserwowane w surowicach ciężarnych.

Liczne badania wskazują, że przyczyną wewnątrzmacicznej hypotrofii płodu jest dysfunkcja śródbłonna naczyniowego związana ze zmniejszoną syntezą tlenu azotu. W warunkach fizjologicznych tlenek azotu poprawia krążenia łożyskowe poprzez m.in. rozkurcz naczyń krwionośnych i zapobieganie agregacji płytek krwi, a w konsekwencji zwiększa dotlenienie oraz odżywienie płodu. Dlatego też wielu badaczy uważa za uzasadnione podawanie egzogennej argininy, jako donora tlenu azotu w przypadkach wewnątrzmacicznej hypotrofii płodu. Ponadto arginina zwiększa wydzielanie hormonu wzrostu (Pardej i wsp. 2009).

Stwierdzono także, że NO wytwarzany jest nie tylko przez komórki śródbłonna naczyń, ale również przez myometrium oraz w znaczących ilościach przez trofoblast.

Obecnie pacjentkom podawana jest L-arginina jako substrat egzogennej NO w celu poprawy stanu chorych w schorzeniach takich jak, m.in. nadciśnienie indukowane ciążą, hypotrofia płodu.

Wykazano również możliwy wpływ NO na zapobieganie porodowi przedwczesnemu. Działanie to tłumaczone jest wpływem na relaksację mięśni gładkich, zapobieganiem skurczom macicy oraz wpływem na krążenie maczyno-płodowe. Wykazano poprawę wskaźników przepływu w tętnicy pępowinowej oraz środkowej mózgu u płodu, co może świadczyć o poprawie dystrybucji przepływu w obrębie łożyska i układzie krążenia płodu (Rytlewski i wsp. 2008).

Zwiększenie lub niewielkie zmniejszenie syntezы NO w ciągu pierwszych czterech tygodni abstynencji może być czynnikiem prognostycznym przerwania abstynencji w ciągu kolejnych 5 miesięcy [Pedrycz i wsp. 2010].

Najbardziej znanym donorem tlenu azotu jest nitrogliceryna i L-arginina.

L-arginina (kwas 2-amino5-guanidynopentanowy) wyodrębniona po raz pierwszy w 1886 roku przez Ernsta Schulze [Winterstein 1912]. W 1910 roku opisano jej strukturę chemiczną, w 1930 roku Rose stwierdził, że występuje ona w ludzkich organizmach, a w 1932 roku Krebs zbadał, że pełni ważną rolę w cyklu ornitynowym. Natomiast lata 50-te XX wieku przyniosły opracowania badań, stwierdzające, że arginina jest aminokwasem endogennym, wytwarzanym u zdrowych ludzi w wystarczających ilościach. Sytuacja ta zmienia w przypadku ciężkiej choroby i u dzieci, u których jest konieczność suplementacji argininy z pokarmem, głównie zawierającym duże ilości białka.



NO excess or deficiency may be the reason of development of many diseases. Nitric oxide overproduction may lead to sclerosis, degenerative diseases of the nervous system, inflammations, autoimmune and cancerous diseases. Endogenous NO deficiency, on the other hand, may be the cause of advancement of hypertension in gestosis, arteriosclerosis and hypercholesterolemia [Rytlewski and others 2001]. Positive aspects of NO activity are used in treating gestosis in pregnant women, coronary heart disease and sclerosis of the lower extremities as well as in certain types of cancer [Brüne and others 1999]. Medicine also makes use of its antiaggregant effect causing a lessened adhesion of thrombocytes to vascular walls, reducing plasminogen activity and erythrocyte deformability, as well as restraining conversion of vascular walls [Radomski and others 1987].

NO has an anti-inflammatory effect connected with the production of prostaglandins. It participates in an organism's immunological response, antibacterial and antiviral defence. It has also been revealed that NO activates the fibrinolytic system, probably by inhibiting the release of plasminogen activators from blood platelets.

From the moment of Gustafsson's discovery ascertaining that NO is also present in exhaled air the interest in its role in respiratory system diseases significantly grew (Bates and others 2003). It causes widening of the smooth muscles of the bronchi and has an impact on mucus production and the activity of ciliary apparatus. Additionally, tension reduction of the smooth muscles of blood vessels improves lung oxygenation. The results of multicentre studies on the use of NO inhalation in sick neonates indicated visible improvement in pulmonary ventilation and perfusion. Moreover, a decrease in infant mortality was observed as well as a reduction in the incidence of obstructive pulmonary disease (Kostka-Trąbka 2002).

Endogenous NO overproduction is believed to participate in the pathogenesis of numerous diseases, such as degenerative diseases of the nervous system, autoimmune diseases, inflammations and cancer. NO deficiency accompanies arterial hypertension, hypercholesterolemia, preeclampsia (Rytlewski and others 2001).

The conducted studies showed that NO production is reduced in women with pregnancy induced hypertension as compared with pregnant women characterised by a normal blood pressure. Unfortunately, the studies failed to provide an unambiguous confirmation of a change of its concentration level in the blood (Kharfi and others 2003).

Furthermore, it was ascertained that a significant factor reducing NO activity is an increased concentration of its synthase inhibitors observed in the serum of pregnant women.

Numerous studies indicate that the reason for intrauterine foetus hypotrophy lies in the dysfunction of vascular endothelium connected with nitric oxide synthesis. In physiological conditions nitric oxide improves placental circulation, for instance, by relaxing blood vessels and preventing the aggregation of blood platelets, and consequently increases the oxygenation and alimentation of the foetus. Hence, many researchers claim that administering exogenous arginine as a nitric oxide donor is justified in cases of intrauterine foetus hypotrophy. Moreover, arginine increases the release of the growth hormone (Pardej and others 2009).

Additionally, it was observed that NO is produced not only by the cells of endothelial vessels but also by myometrium and, in significant quantities, by trophoblast.

At present patients are administered L-arginine as an exogenous NO substrate with the objective of improving their condition in such ailments as pregnancy induced hypertension or foetal hypotrophy.

Also the possible influence of NO on the prevention of premature labour was indicated. Such an activity is explained by NO's impact on the relaxation of smooth muscles, preventing uterine contractions as well as the effect it has on foetal circulation. An improvement was observed in the blood flow in the umbilical and middle cerebral arteries in the foetus, which may be an indication of an improved distribution of the flow in the placenta and the foetal circulation system (Rytlewski and others 2008).

Takie pokarmy to np.: nabiał, wołowina, drób, ryby, orzechy, zboża, sól i słońcecznik. L-arginina jako źródło tlenu azotu, jest wykorzystywana jako lek, w takich chorobach, jak; samoistne nadciśnienie tętnicze, nadciśnienie indukowane ciążą, nadciśnienie płucne, miażdżyca tętnic kończyn dolnych, choroba Raynauda, hipercholesterolemia, stabilna choroba wieńcowa serca, niewydolność krążenia, jaskra, cukrzyca, przewlekła niewydolność nerek, a także w prewencji restenozy po implantacji stentów wieńcowych, po angioplastyce naczyń wieńcowych, w zapobieganiu udarom mózgu i zakrzepowym incydentom naczyniowym. Dawki lecznicze L-argininy są zależne od rodzaju schorzenia i wahają się od 1,5g/dobę w leczeniu np. zaburzeń erekcji do 30g/dobę w leczeniu jaskry i innych chorób naczyniowych oczu. W praktyce położniczej podaje się 20g L-argininy w 500 ml płynu fizjologicznego, celem obniżenia ciśnienia tętniczego krwi [Neri i wsp.2004].

Zaburzenie w układzie L-arginina-tlenek azotu jest prawdopodobnie przyczyną rozwoju nadciśnienia tętniczego krwi, indukowanego ciążą. NO, powstający w naczyniach krwionośnych łożyska reguluje w nim przepływ krwi. Destruktywna inwazja komórek trofoblastu i przebudowa naczyń macicy są uważane za przyczynę powstawania gestozy w ciąży [Mignimi i wsp. 2006]. Ta nieprawidłowość łożyska doprowadza do zmniejszenia maciczno-łożyskowego przepływu krwi, przez to nasila skurcz naczyń macicy, aktywując lub uszkodzając komórki śródbłonna. Uszkodzenie śródbłonna naczyń łożyska jest pogłębiane przez różne czynniki, w tym reaktywne formy tlenu.



An increase or a slight decrease in NO synthesis in the first four weeks of abstinence from alcohol may be a prognostic factor opting for breaking the abstinence over the following 5 months [Pedrycz and others 2010].

The most familiar donors of nitric oxide are nitroglycerine and L-arginine. L-arginine (2-amino 5-guanidinopentanoic acid) was first discovered in 1886 by Ernst Schulze [Winterstein 1912]. In 1910 its chemical structure was defined, in 1930 Rose determined that it was present in the human organism, whereas in 1932 Krebs confirmed in his studies that it played an important role in the urea cycle. The 1950s, on the other hand, brought about numerous analyses confirming that arginine is an endogenous amino acid produced in healthy humans in sufficient quantities. This situation is changed in the case of a serious disease and in children, where arginine needs to be supplemented through diet including mainly large quantities of proteins. The examples of such food include: dairy produce and eggs, beef, poultry, fish, nuts, cereal, salt and sunflower seeds. L-arginine as a source of nitric oxide is used as a cure in such diseases as idiopathic hypertension, pregnancy induced hypertension, pulmonary hypertension, lower-extremity arterial disease, Raynaud's disease, hypercholesterolemia, stable coronary heart disease, circulatory failure, glaucoma, diabetes, chronic kidney disease, as well as in the prevention of restenosis after an implantation of coronary stents, after an angioplasty of coronary arteries, in the prevention of cerebral strokes and thrombotic events. Medicinal doses of L-arginine depend on ailment type and vary from 1.5g/day, for example, in the treatment of erectile dysfunctions, to 30g/day used in treating glaucoma and other vascular eye diseases. In the obstetrics it is common to administer 20g of L-arginine in 500ml of physiological liquid with the aim to reduce arterial blood pressure [Neri and others 2004].

An imbalance in the L-arginine-nitric oxide pattern is presumably the cause of development of pregnancy induced arterial hypertension. NO produced in the vessels of the placenta is responsible for the regulation of its blood flow. A destructive invasion of trophoblastic cells and the change in the structure of uterine vessels are believed to be the cause of gestosis in pregnancy [Mignimi and others 2006]. This irregularity in the placenta leads to reduced blood flow between the uterus and the placenta, thus causing an intensification of uterine vessels contractions and activating or damaging endothelial cells. The damage to the endothelial vessels of the placenta is intensified by various factors, including reactive forms of oxygen.

## BIBLIOGRAPHY

1. Bates C.A i Silkoff P.E.: Exhaled nitric oxide in asthma: from bench to bedside. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003; 111: 256 – 62 (*in English*),
2. Brüne B., von Knethen A., Sandau K.B.: Nitric oxide (NO): an effector of apoptosis Cell Death&Differentiation., vol.6, 10: 969-975, 1999 (*in English*),
3. De Berrazueta J.R.: The Nobel Prize for Nitric oxide. The unjust exclusion of dr Salvador Moncada. *Rev. Esp. Cardiol.*, 52 : 221-226, 1999 (*in English*),
4. Durrant Ph.J., Durrant B.: An outline of inorganic chemistry. PWN, 750-768, 1965 (*in Polish*),
5. Foster M.W., McMahon T.J., Stamler J.s.: S-nitrosylation in health and disease. *Trends Mol. Med.* , 2003; 9: 160-168 (*in English*),
6. Furchgott R.F. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. *Biosci. Rep.*, 1999; 19: 235-251 (*in English*),
7. Garthwaite G., Batchelor A.M., Goodwin D.A., Hewson A.K., Learning K., Ahmed Z., Cuzner M.L., Garthwaite J. Pathological implications of iNOS expression in central white matter: an ex vivo study of optic nerves from rats with experimental allergic encephalomyelitis. *Eur. J. Neurosci.*, 2005; 21: 2127-2135 (*in English*),
8. Giulivi C., Kato K., Cooper C.E.:Nitric oxide regulation of mitochondrial oxygen consumption I: cellular physiology. *Am.J.Physiol.Cell Physiol.* 2006; 291(6): 1225-1231. (*in English*),
9. Kanai A., Peterson J.: Function and regulation of mitochondrially produced nitric oxide in cardiomyocytes. *AJP-Heart* , vol. 286, n.1, H11-H12, 2004 (*in English*),
10. Kharfi A., Giguere Y., Sapin V., Massae J., Dastugue B., Forest J.C.: Trophoblastic remodeling in normal and preeclamptic pregnancies: implication of cytokines. *Clin. Biochem.*, 2003; 36: 323 – 331 (*in English*),
11. Kostka-Trąbka E: Arginine – a familiar amino-acid with new clinical applications. *Ordynator Leków* 2002; 3: 15–19 (*in Polish*),
12. Lee J, Ryu H, Ferrante RJ, Morris SM Jr, Ratan RR: Translational control of inducible nitric oxide synthase expression by arginine can explain the arginine paradox. *PNAS* 2003; 100: 4843–4848 (*in English*),
13. Maleck W.H., Piper S.N., Koetter K.: Joseph Priestley, nitrous oxide and oxygen. *Anaesthtist.*, 2005; 54: 395-396 (*in English*),
14. Mignini L.E., Villar J., Khan K.S.: Mapping the theories of pre-eclampsia: the need for systematic reviews of mechanisms of the disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 194:317-21, 2006 (*in English*),
15. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A.: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109–142 (*in English*),
16. Mungrue I.N., Brecht D.S., Stewart D.J., Husain M.: From molecules to mammals: what's NOS got to do with it? *Acta Physiol. Scand.*, 2003; 179: 123–135 (*in English*),
17. Neri I, Blasi I, Facchinetti F.: Effects of acute L-arginine infusion on non-stress test in hypertensive pregnant women. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 16(1): 23-26, 2004 (*in English*),
18. Pardej A., Gryboś M., Kubicki J., Gamian A., Guzikowski W.: Arginine and citrullin and fetal hypotrophy– part II. *Gin Poł Med. Project* 2009; 1 ( 11 ): 11-16, (*in Polish*),
19. Pedrycz A., Ciechan A., Siermontowski P., Polz D.: Nitric oxide (NO) – a complex regulator of vital processes. Its role in the pathomechanism of alcoholism and the withdrawal process. *Curr. Prob. of Psych.*, 2010; 11(4): 296-300 (*in Polish*),
20. Radomski M.W., Palmer R.M.J., Moncada S.: Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet. II*: 1057-1058, 1987(*in English*),
21. Raghavan S.A.V., Dikshit M.: Vascular regulation by the L-arginine metabolites, nitric oxide and agmatine. *Pharmacol. Res.*, 2004; 49: 397–414 (*in English*),
22. Raghavan S.A.V., Dikshit M.: Vascular regulation by the L-arginine metabolites, nitric oxide and agmatine. *Pharmacol. Res.*, 2004; 49: 397–414 (*in English*),

23. Rytlewski K, Olszanecki R, Lauterbach R. et al. Effects of oral L-arginine on the pulsatility indices of umbilical artery and middle cerebral artery in preterm labor. *Eu. J. Obst. Gyn. Reprod. Biol.*, 2008; 138: 23-28 (*in English*),
24. Rytlewski K, Olszanecki R, Zdebski Z.: Clinical research on the significance of exogenous L-arginine during pregnancy. W: Z. Zdebski, R. Lauterbach, K. Rytlewski, J. Tomaszczyk (red.): *Probl. Perinat. Klin.*, Wydawnictwo Studio PIN, Kraków 2001: 308-323 (*in Polish*),
25. Rytlewski K, Zdebski Z.: Nitric oxide – one of the mechanisms that prevent changes that occur during pregnancy., *Gin. Pol.* 72: 738-743, 2001 (*in Polish*),
26. Stuehr D.J., Marletta M.A. : Mammalian nitrate biosynthesis : Mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to Escherichia coli lipopolysaccharide. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* . 82: 7738-7742 , 1985 (*in English*),
27. Tong X, Li H.: eNOS protects prostate cancer cells from TRAIL-induced apoptosis. *Cancer Lett.*, 2004; 210: 63-71 (*in English*),
28. Winterstein E.: Ernst Schulze: Biography and bibliography (with portrait). *Biochemical Bulletin* , vol. II, N 5: 1-21, 1912 (*in English*).

## **ОКИСЬ АЗОТА (NO) - УНИВЕРСАЛЬНЫЙ РЕГУЛЯТОР ЖИЗНЕННЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНИЗМЕ НА КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ**

*До настоящего времени обнаружено и описано 7 оксидов азота: Оксид азота (I) N<sub>2</sub>O - закись азота, окись азота ди, иначе известный как веселящий газ, Оксид азота (II) NO - монооксид азота, азота (III) N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - окись азота, Оксид азота (IV) NO<sub>2</sub> - двуокись азота, диоксид азота - N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> - который может образовывать димер, Оксид азота (V) N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - пятиокись азота, Оксид азота (VI) NO<sub>3</sub> - трехокись, радикал оксида азота с сильным окисляющим действием, Оксид азота (VII) N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> - шестиокись азота, лабильное соединение с перекисью O<sub>2</sub>N-O-O-NO<sub>2</sub>.*

*В медицине наиболее важным является оксид азота (NO), которому посвящена эта работа.*

**Ключевые слова:** оксид азота, пероксинитрит, клетка, L-аргинин.

**dr hab. med. Agnieszka Pedrycz**  
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii  
z Pracownią Cytologii Doświadczalnej  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
ul. Radziwiłłowska 11 20-080, Lublin  
e-mail: apw4@wp.pl

**dr med. Piotr Siermontowski**  
Zakład Medycyny Morskiej  
i Hiperbarycznej  
Wojskowy Instytut Medyczny  
ul. Grudzińskiego 4 81-103 Gdynia 3  
skr. poczt. 18  
e-mail: nurdok@tlen.pl

**Alicja Ciechan**  
Wojewódzkie Pogotowie Ratunkowe  
Samodzielny Publiczny Zakład Opieki  
Zdrowotnej w Lublinie  
ul. Spadochroniarzy 8, 20-043 Lublin

**dr n. med. Marcin Orłowski**  
Przychodnia Lekarska Nowy Chełm Sp z o.o  
Centrum Diagnostyki i Terapii Chorób  
Przewodu Pokarmowego  
ul. Chałubińskiego 23 80-807, Gdańsk  
tel/fax: 48 58 3036210  
m.orlowski@przychodniachelm.pl

**dr n. med. Grzegorz Zając**  
Zakład Rehabilitacji Leczniczej,  
Wojewódzki Szpital Specjalistyczny  
w Chełmie  
ul. Szpitalna 52. 22-100 Chełm  
Tel. 82 562-31-70