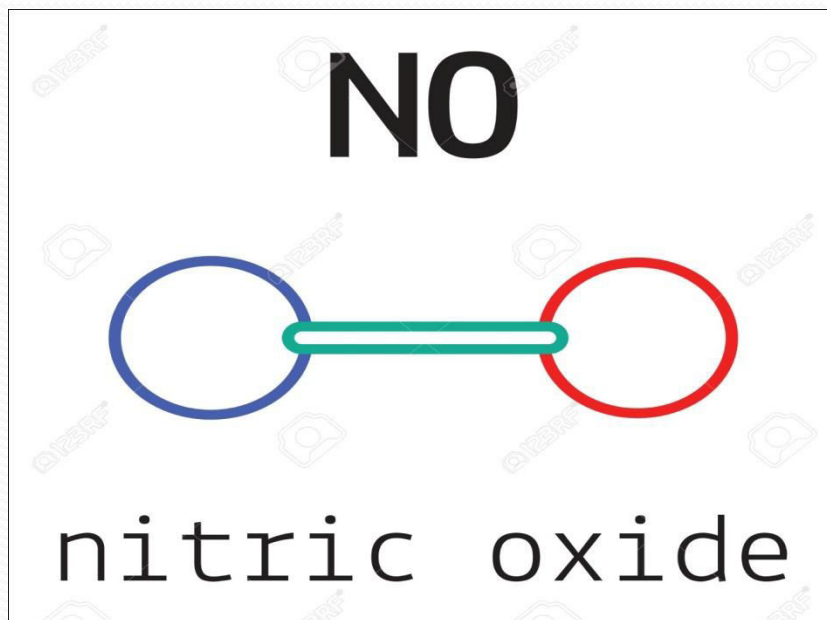


Azot oksid: sinteza, metabolizam i funkcija

Doc.dr Snežana Pantović

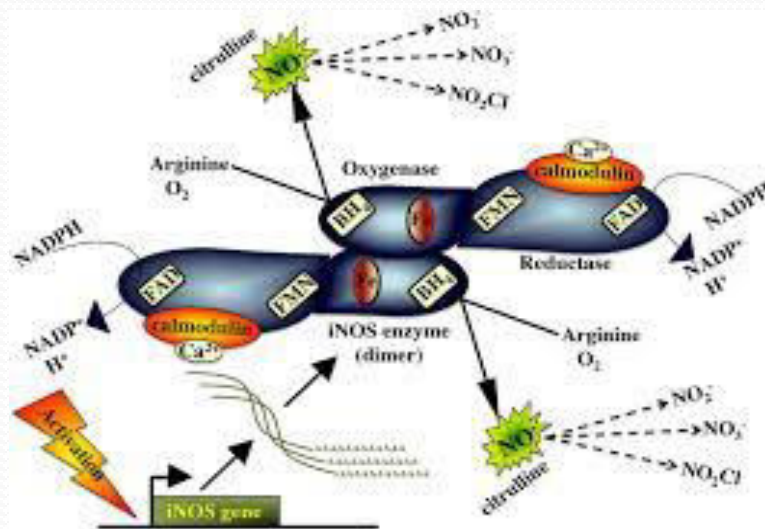
Istorija

- Nitroglicerol – angina pectoris
- Empirijska primjena još prije 30 godina dokazano je da je endotelni faktor relaksacije slobodni radikal azot oksida, NO.

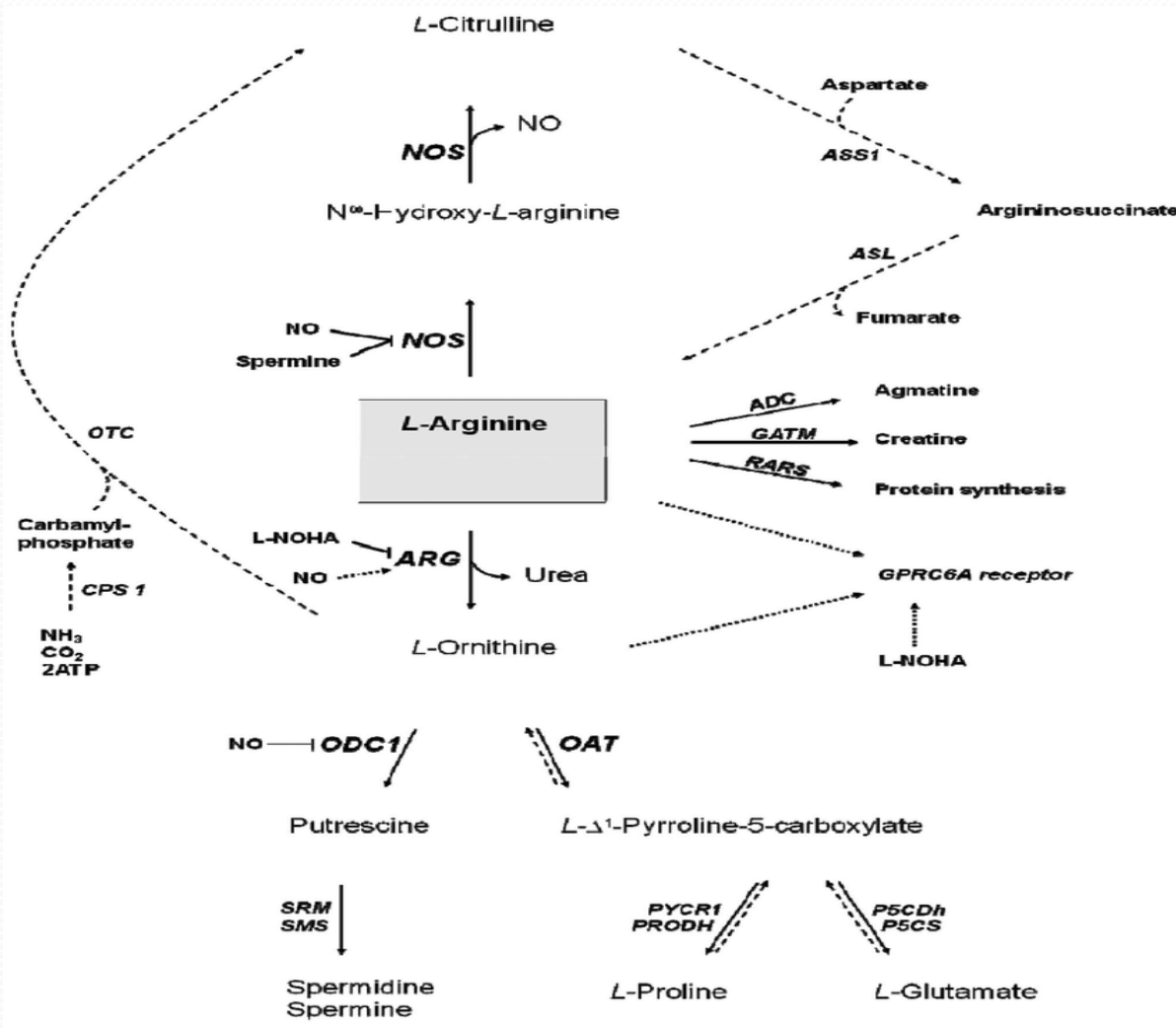


Hemijske karakteristike

- Mala, lipofilna, hemijski nestabilna molekula
- Posjeduje autokrina i parakrina svojstva



Sinteza azot oksida



Supstrat je L-arginin, u ćelije se unosi pomoću y⁺ transportera. Tokom metabolizma L-arginina stvara se ornitin, iz koga nastaje glutamat. Pod dejstvom NOS i uz prisustvo O₂, iz L-arginina se dvostepenom oksidacijom stvaraju u jednakim količinama NO i L-citrulin.

Azot oksid sintaza

- Dva tipa NOS (cNOS i iNOS)
- Tri izooblika: NOS I (nNOS – nervna), NOS II (eNOS – endotelna), i NOS III (iNOS – inducibilna), novo otkriveni NOS IV (mNOS – mitohondrijska)
- nNOS i iNOS su u citosolu, eNOS je vezana za membranu
- Aktivnost NOS zavisi od doba dana, odnosno noći

Regulacija aktivnosti azot oksid sintaze

- Ispoljavanje funkcije NOS nije moguće bez koenzima, a to su NADPH, FAD I Hb_4 .
- Enzim se aktivira vezivanjem sa kofaktorima
- Ima mogućnost sinteze O_2
- Signal za aktivaciju cNOS se ostvaruje pomoću brojnih jedinjenja
- Za eNOS to su acetilholin, histamin i bradikinin
- Za nNOS su glutamat i aspartat
- Za inducibilnu NOS aktivator je Ca.
- NO reguliše aktivnosti NOS pomoću negativne povratne sprege
Ž
- pH utiče na aktivnost NOS. U acidozi sinteza NO je inhibisana

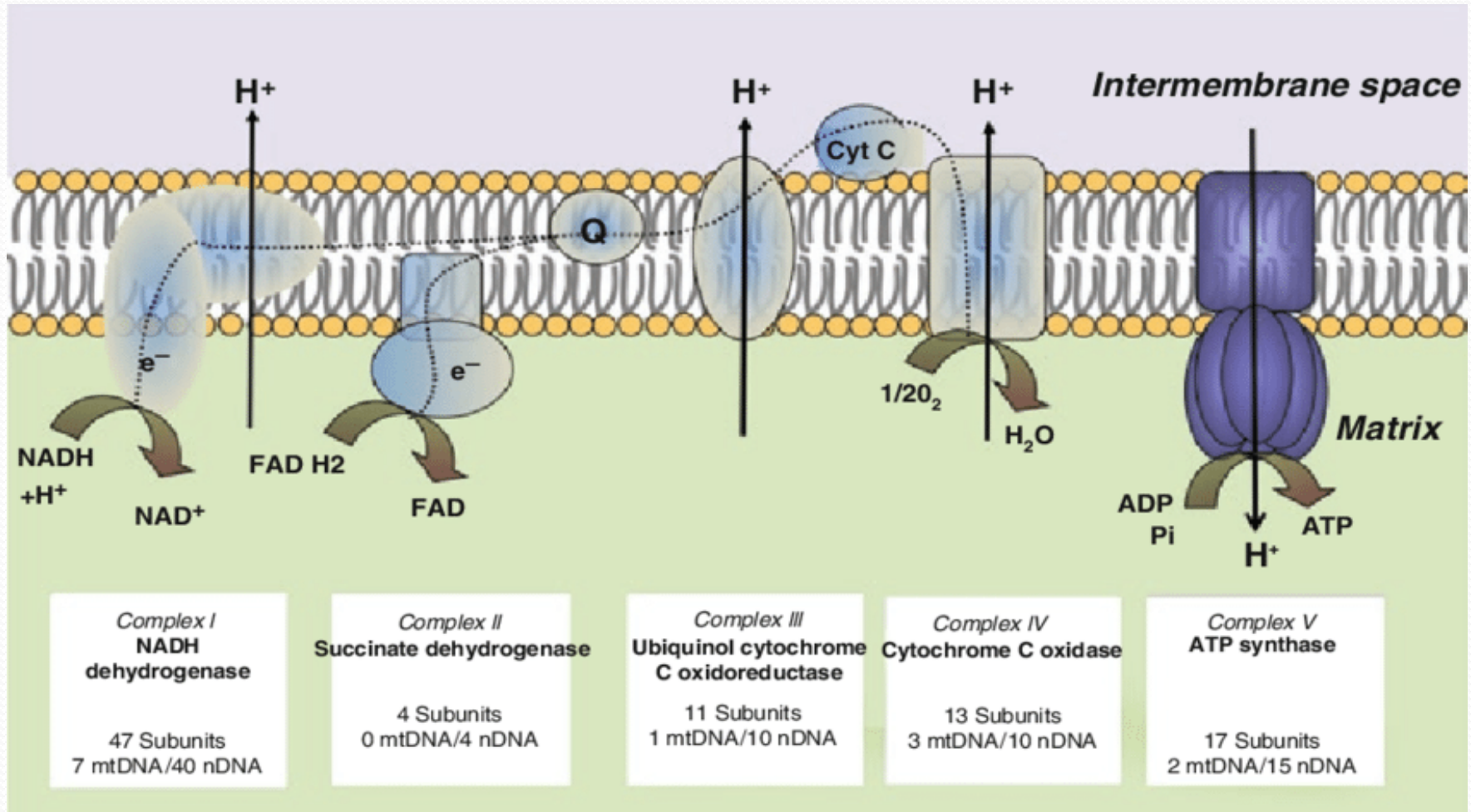
Fiziološka funkcija azot oksida

- Da li su efekti NO štetni ili korisni?
- U fiziološkim uslovima NO se oksidiše do NO₂, nitrata i nitrita, čime se održava homestaza NO, a time i normalno funkcionisanje ćelije,
- Nakon reakcije između NO i gvožđa hemoglobbina, oksihemoglobin prelazi u methemoglobin, a NO se metaboliše do nitrata.

Mehanizam djelovanja azot oksida

- Učestvuje u procesima intra i interćelijske signalizacije i u odvijanju brojnih funkcija u organizmu.
- Direktnim i indirektnim putem
Direktna dejstva:
 - 1) u reakciji sa metalima sa promjenljivom valencom (Fe, Cu, Mn), u prostetičnim grupama proteina i enzima: - hem,
- enzimi (superoksid dizmutaza, katalaza, citohrom-c-oksidaža, akonitaza, kompleks I i II u respiratornom lancu)
 - 2) S-nitrozilacije, sa tiolima, stvaraju se RSNO
- 3) Nitrizacije tirozina
- 4) Oksidoredukcije modulatornog mjesta NMDA receptora
- 5) Reakcije sa reaktivnim vrstama kiseonika
- 6) Oksidacije i nitracije baza DNK
- **Indirektna dejstva:**
 - 1) Stvaranje ONOO
 - 2) Reakcija sa solubilnom gvanilat ciklazom

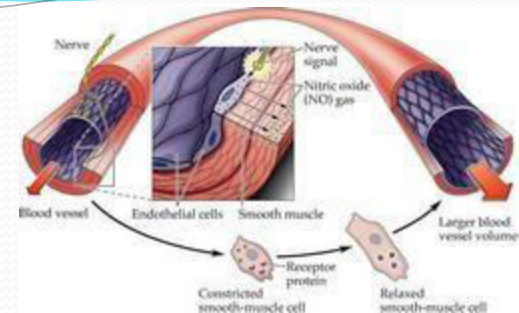
Mitochondrije, ćelijsko disanje i azot oksid



Mitohondrije, ćelijsko disanje i azot oksid

- Efekti se ispoljavaju na membrani mitohondrija
- NO je neophodan u regulaciji oksidativne fosforilacije
- Interakcija između NO i citohrom-c-oksidge iz kompleksa IV, C-oksidge ima visok afinitet za NO, što pogoduje stvaranju O_2 i reverzibilnoj inhibiciji citohrom-c-oksidge
- Dugotrajno izalaganje mitohondrija NO dovodi do oštećenja više enzima: kompleks I, IV, akonitaza i dr.
- NO je uključen i u regulaciji interakcije između mitohondrija i ER-a
- Učestvuje i u depolarizaciji membrane mitohondrija
- U visokim koncentracijama djeluje toksično, uništava ćelije

KVS i azot oksid



- U osnovna dejstva NO u okviru KVS-a spadaju:
 - 1) Vazodilatacija
 - 2) Inhibicija proliferacije mišićnih ćelija krvnih sudova
 - 3) Poboljšanje funkcije LK
 - 4) Adaptacija srca na hipoksiju
 - 5) Angiogeneza
 - 6) Inhibicija athezije i agregacije trombocita
 - 7) Inhibicija inhibitora aktivatora tkivnog plazminogena
 - 8) Inhibicija interakcije leukocita i zida krvnih sudova
- *Nedovoljne količine NO u krvnim sudovima prethode razvoju HTA.

Nervni sistem i azot oksid

- Iz cirkulacije, L-arginin prelazi u astrocite i neurone gdje se aktiviraju pojedini tipovi NOS, tako da se stvoreni NO uključuje u regulaciju funkcije neurone i drugih ćelija.
- NO ne može da se svrsta u neurotransmitere.
- Ponaša kao anterogradni i retrogradni prenosilac informacija neophodnih za proces signalizacije.
- Najnaznčajniji njegov uticaj na cGMP i glutamat i aspartat.
- U bazalnim uslovima moguće je povećanje ili smanjenje aktivnosti GABA pod dejstvom NO.

Nervni sistem i azot oksid

- Acetilholin osloboda pod uticajem NO
- Dihotomni efekti, zavisni od koncentracije NO, preko NMDA receptora.
- Oslobađanje dopamina smanjeno je pri niskim koncentracija NO, dok je povećano pri visokim. Slično je i sa noradrenalinom.
- Preko istih receptora reguliše se i oslobađanje serotonina u hipotalamusu i lokus ceruleusu.
- Kontrolise i oslobađanje histamina

- Kontrola oslobađanja neurotransmitera od strane NO uglavnom se ostvaruje preko EAK.
- U fiziološkim uslovima, NO je uključen u sledeće: neurotransmisija, neuromodulacija, patogeneza bola, regulacija unosa hrana, termoregulacija, učenje i pamćenje i mikrocirkulacija.
- Stvaranju NO prethodi aktivacija jonotropnih postsinaptičkih glutamatnih receptora, utok Ca i aktivacija nNOS.

Azot oksid u patogenezi bolesti i toksičnosti centralnog nervnog sistema

U toku moždanog udara, okluzivnog-reperfuzionog procesa, neurodegenerativnih bolesti, epilepsiji.

Oko oštećenih neurona detektuje iNOS.

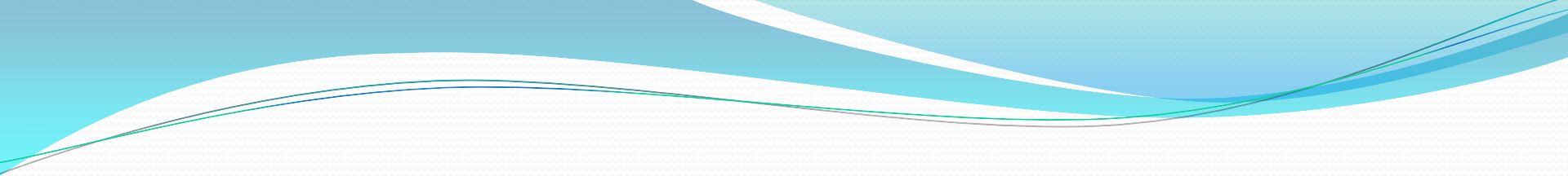
Od količine stvorenog NO i od dužine njegovog djelovanja zavisi da li će inhibicija respiracije u mitohondrijama da bude reverzibilna ili ireverzibilna.

U navedenim uslovima oslobađa glutamat, koji započinje ekscitotoksičnost.

U procesima oštećenja učestvuju i reaktivne vrste kiseonika

Terapijske mogućnosti

- U kliničkoj praksi imaju primjenu jedinjenja iz kojih se oslobađa NO, ali ne i ona koja inhibišu sintezu NO.
- Neophodno je da se procijeni optimalna koncentracija NO.
- Nitrozotoli, Natrijum nitroprusid i S-nitrozo penicilamin
- Gliceril trinitrat, izosorbid di i mononirat.
- Za ispoljavanje efekta nitrata neophodna je očuvanost endotela.
- NO ispoljava protektivne efekte u predjelu sluzokože želuca.



Hvala na pažnji