

NİTRİK OKSİTİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK ÖNEMİ

Ayşegül BİLDİK

Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın

Özet: Yalnızca atmosferde kirlenmeye neden olduğu düşünülen nitrik oksit gazının, memeli hücreleri tarafından üretildiğinin anlaşılmasından sonra bir çok biyolojik olay hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir.

Nitrik oksit (NO), arginin aminoasitinden sitrüllin şekillenmesi sırasında Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. NOS'ın farklı genler tarafından kodlanan üç izoformu vardır: Uyarılabilir NOS (iNOS), makrofajlarda tümör ve bakteri hücrelerini öldürmek, damar endotel hücrelerinde bulunan endotelial NOS (eNOS) ise kan damarlarının gevşemesi için, sinir hücrelerinde lokalize olan nöronal NOS (nNOS) da nörotransmitter olarak NO üretir.

eNOS ve nNOS, kalsiyum ile kalmoduline bağlıdır. Reseptörlerin uyarılması için pikomol miktarlarda NO sentezler. Bununla beraber iNOS kalsiyumdan bağımsızdır ve nanomol düzeyinde NO üretir. NOS, L-arginin analogları tarafından inhibe edilir.

Anahtar Kelimeler: Arginin, Nitrik oksit, Nitrik oksit sentaz

BIOLOGICAL ACTIVITY AND SYNTHESIS OF NITRIC OXIDE

Abstract: The understand that mammalian cells generate nitric oxide (NO), a gas previously thought to be only an atmospheric pollutant, is providing important information about many biological process.

NO is formed by nitric oxide synthase (NOS) oxidizing arginine to NO with the formation of citrulline. Three distinct gene codes for the three forms of NOS: inducible NOS (iNOS), whose induced synthesis enables macrophages to form the NO that kills tumor cells and bacteria, endothelial NOS (eNOS), which produces the NO that relaxes blood vessels, and neuronal NOS (nNOS), which as neurotransmitter.

iNOS and nNOS are calcium and calmodulin-depent, and release picomoles of nitric oxide in response to receptor stimulation. However iNOS is calcium-independent and release nanomol of nitric oxide. NOS is inhibited by L-arginine analogues.

Key words: Arginine, Nitric oxide, Nitric oxide synthase,

Giriş

Nitrik oksit (NO), oksijen yokluğunda suda çözülen renksiz bir gazdır. Oksijensiz ortamlarda oldukça dayanıklıdır. Havada ise süratle oksijen tarafından doku hasarına neden olabilecek kahverengi Nitrik dioksit (NO₂) gazına dönüşür. Yalnızca atmosferde kirlenmeye sebep olan, ozon tabakasını yıkan, kansere yol açabilen, asit yağmurunun ön maddelerinden biri olarak suçlanan NO'in, memeli hücreleri tarafından sentezlendiğinin öğrenilmesi ile birçok biyolojik olay hakkında bilgi sağlanmıştır (1). NO, önceleri damar genişlemesine neden olan, trombositlerin agregasyonunu ve yapışmasını inhibe eden Endotelial Relaxing Factor (EDRF) olarak adlandırılmıştı (2,3). Daha sonraları, nitrodilatatörlerle ve nitrik oksitle yapılan çalışmalarda bu maddelerin cGMP konsantrasyonunu artırmak suretiyle düz kaslarda gevşemeye neden olduğu tesbit edilmiştir. EDRF'nin kimyasal yapısının ve farmakolojik özelliklerinin NO ile benzer olduğu görülmüştür (4,5). NO'in biyolojik özellikleri ve sentezi ile ilgili araştırmalara Moncada ve arkadaşlarının önemli katkıları olmuştur (6).

Bugün artık endotel kaynaklı NO'in, hem hayvanlarda hem de insanlarda, damar gerginliğinin fizyolojik düzenleyicisi olduğu bilinmektedir(6). Bir çok

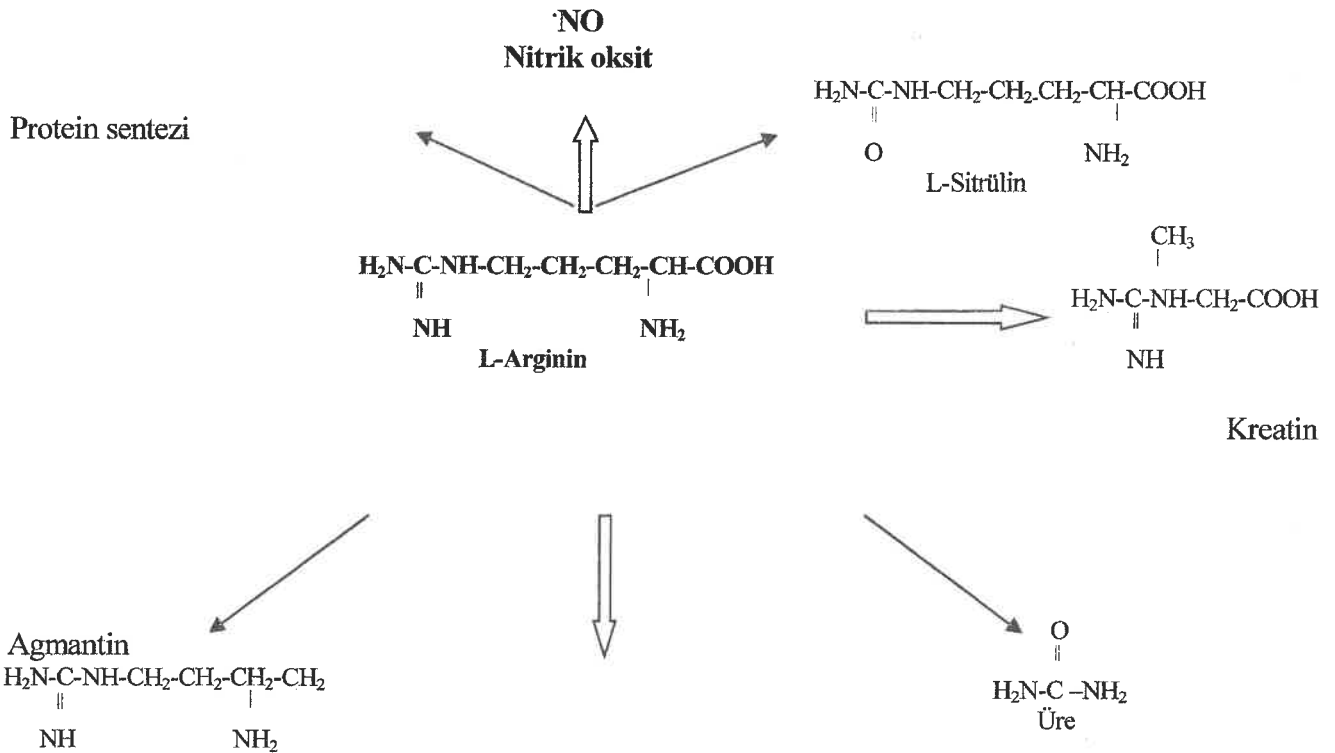
hücre tipinin NO sentezlediği ve NO'in damar direncinin yanı sıra, sinir impulslarının iletimi, bağışıklık, direnç ve hücrelerarası bağın düzenlenmesi gibi bir çok fizyolojik olayda birinci derecede rol aldığı anlaşılmıştır (7, 8).

Hücrelerde çeşitli biyolojik fonksiyonları yerine getirmek üzere üretilen NO, azot merkezli bir radikaldır. Serbest oksijen radikalleri ile birleşerek peroksinitrit adı verilen aktif bir ürün oluşturur. Paylaşılmamış elektron aslında azot atomuna ait ise de, bu elektronun hem azot hem de oksijen atomu üzerinde lokalize olması nedeniyle tam radikal özelliği taşımaz. Bu nedenle, bilinen diğer radikallere göre reaktivitesi baskılandığından oldukça uzun ömürlüdür (9).

Oksijen radikalleri, çok sayıdaki enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla fiziksel/kimyasal mekanizmalarla oluşurlar. Buna karşılık vücudumuzda NO sentezini sağlayan mekanizmalar son derece kısıtlıdır. Vücuda giren nitro bileşiklerinin metabolize edilmesi sırasında oluşan NO bir tarafa bırakılacak olursa, endojen NO oluşturan tek kaynak nitrik oksit sentaz (NOS) enzimidir (10,11). Radikal olarak reaktivitesi düşük olan NO, metal içeren merkezler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girer. Özellikle lipit radikalleriyle tepkimeye girmesi NO'e antioksidan bir etki de kazandırır. NO'in ortaya çıktıktan ve

işlevini yerine getirdikten sonra birkaç saniyelik yarı ömrü vardır. Süratle hemoglobin, metilen mavisi ve süperoksit anyonu tarafından nötrale edilir ya da yaklaşık 10 saniye içerisinde nitrat (NO_3^-) ve nitrit (NO_2^-)'e dönüştür (9). Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdaki temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. Aerobik ortamda NO stabil değildir. Derişiminin artması ile oksidasyonu hızlanır. Bu nedenle ortamdaki konsantrasyonu ile kendi ömrü arasında ters bir orantı vardır (1,12,13).

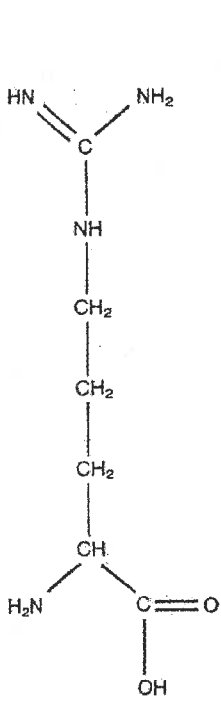
NO, kreatin, glutamat, prolin, poliaminler, üre ve agmantin sentezinde de görev alan L-Arginin aminoasitinden nitrik oksit sentaz enzimi katalizörliğünde sentezlenir (şekil 1) (8,11). Nitrik oksit etkileyici doğasından ve inanılmaz çeşitli etkilerinden dolayı, hayvansal dokularda NOS aktivitesi ve NOS izoenzim ailesi üzerinde son birkaç yılda çok sayıda araştırma yapılmıştır (14,15).



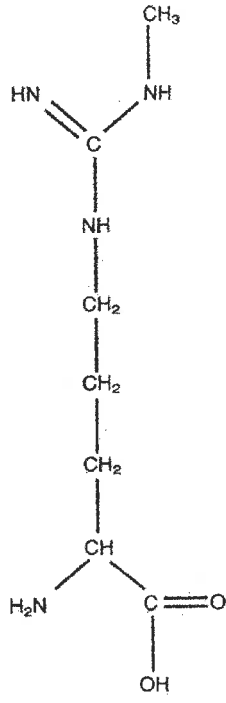
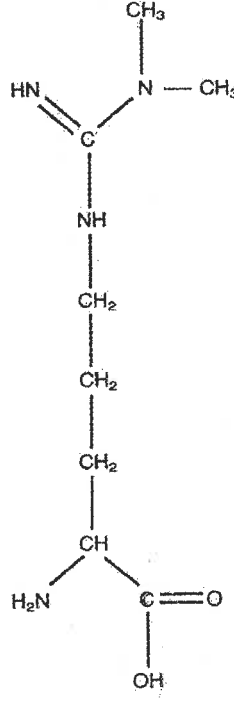
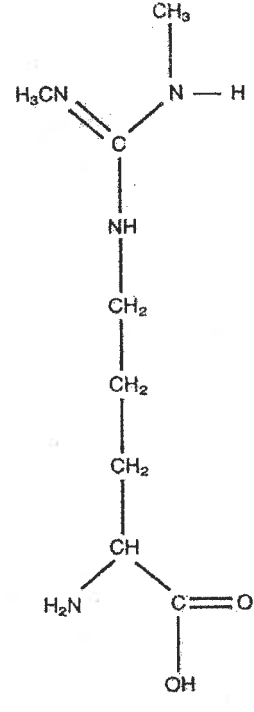
Şekil 1: Argininden Nitrik Oksit Sentezi

İnsanlarda NOS'ın üç izoformu tanımlanmıştır: Endotelial Tip (eNOS), nöronal tip (nNOS) ve makrofajlardaki uyarılabilen NOS (iNOS). Herhangi bir hücre veya doku NOS'ın izoformlarından birden fazlasını içerebilir. Bu enzimleri kodlayan genler sırasıyla 7, 12 ve 17 nolu kromozomlarda yerleşmiştir. Her 3 enzimde L-arginin amino asidinin guanidino nitrojen atomlarından birinin NO ve L-sitrulline oksidasyonunu katalize ederler (14,16). Tepkimede moleküler oksijen ve kofaktör olarak NADPH varlığına gereksinim duyarlar. Reaksiyon NOS'un oksijenaz bölgesinde meydana gelir. Bu bölge, bir sistein-tiol bağlı hem

içerir ve proteinin N-terminal kısmında oluşur. Reaksiyonun elektron vericisi NADPH'dır. İki elektronunu enzime bağlı FAD'e verir ve FMN'i redükler. FMN, hem'deki Fe^{+3} 'i, Fe^{+2} 'e indirger; artık enzime substratın yani L-argininin oksijenasyonu için oksijen bağlanabilir. Her üç enzimde L-NG-Monometil-Arginin (L-NMMA), L-NG-Nitro-Arginin-Metilester (L-NAME) ya da L-NG-Nitro-Arginin (L-NNA) gibi, L-Arginin analogları tarafından yarışmalı olarak inhibe edilebilir (şekil 2) (15,17,18).



L-Arginin

N^ω-Monomethyl-
L-ArgininAsimetrik
DimetilargininSimetrik
Dimetilarginin

Endotelial NO Sentaz (eNOS): Bu enzim, endotel hücrelerinde, belirli nöronlarda, endokardda, miyokardda, trombositlerde lokalize olmuştur. Vasodilatasyon, sinir iletimi, trombosit ve lökosit adhezyonu, endotel yüzeyinin tromborezistan özellik kazanması gibi fizyolojik fonksiyonlar için, aralıklarla çok küçük miktarlarda nitrik oksit üretir (19). Kofaktör olarak kalsiyuma/kalmoduline bağımlıdır. Hücre içi kalsiyum düzeyini yükselten agonistlere yanıt verir. Kalsiyum seviyesinin yükselmesi kalmodulinin NOS'a bağlanmasını uyarır ve anında pikomol düzeylerinde nitrik oksit sentezlenir. eNOS'un sinir sistemine karakteristik tipi, nNOS olarak adlandırılır (20,21).

Uyarılabilen NOS (iNOS): Endotel hücrelerinde, damar düz kas hücrelerinde, makrofajlarda, nötrofillerde, kardiyak miyozitlerde ve endokard hücrelerinde, eNOS dışında, endotoksin, IL-1, TNF ve α-IFN gibi sitokinlerle indüklenen ikinci bir nitrik oksit sentaz enzimi bulunmaktadır. Bu enzim daha uzun süreli uyarılıp, büyük miktarlarda (diğerinden en az 1000 kat daha fazla) nitrik oksit üretir ve kalsiyumdan bağımsızdır. Kofaktör olarak kalmodulin yerine tetrahidrobiopterine gereksinim duyar. Bu enzim sitokinlerin uyarısı sonucu, birkaç saat sonra başlayan ve günlerce süren nanomol düzeylerinde NO sentezler (15,16). IL-8, IL-10, TGF- gibi maddelerin NO sentezini yavaşlattığı (22), glukokortikoidlerin NOS enziminin, sitokinler tarafından uyarılmasını önlediği görülmüştür (23).

Kalp Damar Sisteminde Nitrik Oksit

Nitrik oksite bağlı vasodilatasyon fizyolojiktir, kan akışı ve basıncının düzenlenmesi için esastır. Terapotik ilaçlardan salıverilen nitrik oksit angina pectorisin tedavisinde 1867'den beri kullanılmıştır. Bununla beraber NO'nin kan damarlarının dilatasyonunda aktif ajan olduğu 1980'lere kadar bilinmiyordu. Klinik uygulamalarda uzun süre sodyum nitroprusid ve nitroglicerine gibi bileşiklerden vasodilatator olarak faydalanılmıştır. Aradan ancak 100 yıl geçtikten sonra nitroglicerinin NO gazına dönüşerek etki gösterdiği anlaşılmıştır (4,9). NO'nin düz kaslarda gevşemeye yol açmasının mekanizması bugün iyice aydınlatılmıştır. NO düz kas hücrelerindeki guanilat siklaz enziminin demir içeren hem molekülündeki demir atomuna bağlanarak molekülün üç boyutlu yapısını değiştirip, enzimin aktif hale gelmesini sağlamaktadır. Aktifleşen enzim de GTP'den cGMP sentezini artırır, düz kaslarda gevşemeye neden olmaktadır. (15,24).

Fizyolojik olarak damarın gerginliği, endotel kökenli gevşeticiler (NO, prostasiklin gibi) ve damar daraltıcı etkenlerle birlikte düzenlenir. Endotelial NO sisteminin ateroskleroz, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, yaşlanma gibi patofizyolojik süreçler sonucunda olumsuz etkilendiği bildirilmiştir (25). Arginin verilmesiyle hiperkolesterolemili insan ve hayvanlarda vasküler bozukluğun normale döndüğü görülmüştür (10,12).

Kronik pulmoner hipertansiyonda akciğerlerde

damar hasarı ve bağ dokusu artışı görülür. NO'in bu süreçleri engelleyici etki gösterdiği, oluşturduğu damar genişlemesi ile pulmoner hiper tansiyonu azaltıcı etki yaptığı bildirilmiştir (19). Ayrıca solunan havadaki 18-36 ppm NO'in solunum sıkıntısı çeken insanları rahatlattığı saptanmıştır. Yedi gün NO verildiği takdirde akciğer fonksiyonunun gelişmesine destek olduğu, tedaviye yardımcı olduğu kanısına varılmıştır (26). Diğer taraftan NO serbest oksijen radikalleri ile birleşerek peroksinitrit radikali oluşturarak akciğerlerde sitotoksik etkiler yapabilmektedir. Dolayısıyla NO'in pulmoner hipertansiyondaki etkisi konsantrasyona bağlı olarak olumlu ya da olumsuz olabilmektedir (12).

Sinir Sisteminde Nitrik Oksit

Nitrik oksitin nörokimyasal sistem üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, bazı periferik sinirlerde presinaptik ve postsinaptik hücreler arasındaki transmisyon katkısında bulunduğu, nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinirlerde ise modulatör olabileceği gösterilmiştir (15,19,21).

1977'de NO'in, ratların serebellar korteksinde eriyebilir guanilat siklazı uyardığı görülmüştür. Sinir sistemi üzerine yapılan sonraki çalışmalarda, NO'in damarlar üzerindeki etkisine benzer etkiye sahip bir madde salgıladığı ve sinir sisteminde de L-arginin-nitrik oksit yolunun bulunduğu gösterilmiştir (20,21,27). cGMP konsantrasyonu, L-arginin ile artırılmış ve nitrik oksit sentazın inhibitörleriyle bloke edilmiştir. Damar endoteliumu ve trombositlerde olduğu gibi, intrasellüler Ca^{2+} deki artışların NO sentezini uyardığı, buna rağmen fizyolojik düzeylerdeki Ca^{2+} 'un eriyebilir guanilat siklazı inhibe ettiği tespit edilmiştir. Hedef hücrelerde NO sentezinin bu mekanizmayla kontrol edildiği düşünülmektedir (26,28).

NO, bugüne kadar bilinen nörotransmitterlerden çok farklıdır Nitrik oksidin özel depolanma şekli ve özel salıverilme mekanizmaları gösterilememiştir. Gerektiği yerde ve gerektiği zamanda sentezlenip, üretildiği hücreden basitçe dışarıya çıktığı görülmüştür. Ayrıca nörotransmitterlerin çoğu, aminoasitler veya peptitlerden oluşmaktadır. Bunlar da alıcı hücrelerin üzerindeki reseptörlerle birleşerek etki ederler. Nitrik oksitin özel reseptörleri yoktur. Hücre zarlarını kolayca geçerek ulaşabileceği her türlü hücreye girip sitoplazmadaki enzimleri aktive ederek mesajı iletmektedir (12,17,22).

Araştırmalar beyinde, öğrenme ve anımsama konusunda da NO'in rolünün olabileceğini düşündürmektedir (29,30). İn vitro spesifik reseptörlerin uyarılmasından sonra bir veya daha fazla nöronlarda bir postsinaptik kaynaktan presinaptik etki oluşturmak için NO salıverilir. Bunun sonucu glutamat miktarı artar ve sinaptik transmisyonunda uzun süreli potansiyasyon meydana gelir. Bu durumun hafıza ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Hayvan deneyleri de bu görüşü desteklemektedir. İn vivo nitrik oksit sentezinin inhibisyonu öğrenme davranışlarını bozmuştur. Nitrik oksidin yem alımı, koku alma üzerinde de fizyolojik rol oynadığı öne sürülmüştür. NOS'un inhibisyonu sonucu pasif sakınma

davranışının öğrenilmesinin engellendiği görülmüştür (12,15,29).

Gastrointestinal sistemde NO muskularis eksternanın gevşemesine eden olmaktadır. Yine bu sistemde mukozal kan akımının düzenlenmesinde, mukozanın korunmasında, etkili olduğu saptanmıştır. (6,12,30).

L-arginin-nitrik oksit yolu korpus kavernosumda da bulunmuş ve NO'in penis ereksiyonundan damar düz kaslarını gevşeterek doğrudan sorumlu olduğu klinik çalışmalarla doğrulanmıştır. Bu işlevde rol oynayan kasık bölgesindeki sinirler, beyinden aldıkları uyarımın sonucunda nitrik oksit sentezlemektedir. NO gerekli bölgelerde damar gevşemesini sağlayarak ereksiyona neden olmaktadır. Elektriksel olarak invitro uyarılmış korpus kavernosumun relaksasyonunun NOS'ın inhibitörleri tarafından engellendiği görülmüştür (31,32).

Savunma Sisteminde Nitrik Oksit

İnsanlar ve diğer memeliler, diyetleriyle düşük miktarlarda NO₃ alır ve atarlar. Diare ve ateşli hallerde idrarla NO₃ atılımında önemli artış bulunmuştur. E.coli lipopolisakkaritleri verilen ratlarda oluşturulan ateşin derecesine bağlı olarak atılan NO₃ düzeyinde bir artış saptanmıştır. Bu sonuçlar NO₃ sentezi ile immunostimulasyon arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Meydana gelen NO₂ ve NO₃ 'ın L-argininin guanidino nitrojen atomlarından kaynaklandığı ispatlanmıştır. Bu reaksiyon L-sitrülinin şekillenmesi ve makrofajların bakteri, tümör ve virus hücreleri üzerine sitotoksik etkisinden sorumludur. Ancak NO'in molekül yapısı ve aktivitesi serbest radikal niteliğinde olmasına rağmen bu etkinin mekanizması açıklanamamaktadır. Makrofajların NO ile birlikte salınan süperoksitin NO ile etkileşerek peroksinitrit oluşturduğu ve bununda sitotoksik etkilerden sorumlu olabileceği bildirilmektedir. (3,6,30).

Makrofajlarda NO sentezi yalnızca L-arginin analogları tarafından değil, L-konovan tarafından da inhibe edilir. Makrofajlardaki L-arginin-NO yolu, primer savunma sistemi olarak görülmektedir. NO'e hassasiyet bir hücreden diğerine göre değişir. Bazı hücrelerde sitotoksik, bazılarında ise sitostatik etki yapar. Bunun sebebi tam olarak açıklanamamıştır ama demir sülfür içeren enzimlerle ilgili olabileceği düşünülmektedir (15,30).

Makrofajlardaki NOS, endotelial hücre, trombosit ve sinir sistemindeki izoformlarından farklıdır. Enzim, substrat olarak L-arginin, kofaktör olarak NADPH ve tetrahidrobiopterine ihtiyaç duyar, Ca^{2+} gereksinmez, Mg^{2+} esansiyel değildir ama enzim aktivitesini artırır (26,31,33). Redükte GSH'ın da makrofajlarda NO üretiminde etkili rol oynadığı araştırmalarda gösterilmiştir (34).

Rat peritoneal ve insan nötrofillerinden salınan bir NO benzeri faktörün daha sonraları L-argininden sentezlenen NO olduğu gösterilmiştir. Nötrofillerde NO

sentezleyen enzim Ca^{+2} 'a bağlıdır ve L-NMMA, L-NIO ve L-NAME tarafından inhibe edilebilir (14,20).

Deksametazonun, hidrokortizon ve kortizol gibi glukokortikoidlerin iNOS'ı inhibe ettiği araştırmacılar tarafından saptanmıştır (23). Bu inhibitör etkinin glukokortikoidler terapötik dozlarda verildiği takdirde düşük olduğu görülmüştür. Yine glukokortikoidlerin iNOS üzerindeki inhibitör etkisi, invitro glukokortikoid reseptörlerinin kısmi bir agonisti olan korteksolon ile engellenmiştir. Araştırmacılar endotoksin şok, astım ve romatoid artritte glukokortikoidlerin NOS'ı inhibe ederek NO'nin neden olduğu patolojik vasodilatasyon ve sitotoksik etkisini azalttığını iddia etmişlerdir. (23, 30).

Trombositlerin NO sentezledikleri ve L-arginin-NO yolunun düzenlenmesinde negatif feed-back mekanizmasının rol oynadığı gösterilmiştir(19,26). Trombosit sitozolündeki cGMP miktarı yalnızca sodyum nitroprusid ile değil, L-arginin ilavesi ile de artmıştır. L-argininin etkisi enantiomer spesifiktir ; L-NMMA ve NADPH varlığına bağlı olarak inhibe edilir. İnsan trombositlerinde NOS'ın bulunduğu, elektron spin rezonans spektroskopisi kullanılarak tespit edilmiştir. (26,28).

Hemoglobin, güçlü bir şekilde NO'nin aktivitesini inhibe eder, yıkanmış trombositlerde L-arginin ile antagonist değildir. Buna karşılık trombosit sitozolünde L-argininin neden olduğu cGMP'nin artışı inhibe eder. Bu durum hemoglobin trombosit membranına etki etmediğini vurgular (19,26).

NO, bağışıklık ve inflamasyonda çoğu hücre tiplerinde sentezlenir. NO, infeksiyöz organizmalara karşı önemli bir toksik savunma molekülüdür. Makrofaj, T lenfosit, antijen hücreler, mast hücreleri, nötrofiller ve doğal öldürücü hücreleri içeren, bağışıklık ve inflamator hücre tiplerinin fonksiyonel aktivitesini, büyümesini ve ölümünü de düzenler. Bununla beraber immunolojik hastalıklar ve inflamasyonda, nonspesifik, spesifik bağışıklıkta NO'nin rolü anlaşılmamıştır. iNOS tarafından yüksek konsantrasyonlarda şekillenen NO hızlıca reaktif nitrojen oksit türlerine oksitlenir Mitokondrial solunum enzimlerinden bazıları reaktif NO tarafından inhibe edilir; hücrel enerji ve ATP yıkımı meydana gelir. İnteraksiyonların kombinasyonu, bağışıklık ve enfeksiyon hücrelerinin regülasyonunda NO'nin bir çok aksiyonları bu şekilde açıklanabilir(35).

Nitrik Oksit'in Patolojik Olarak Saliverilmesi

NO ve diğer serbest radikaller hücrelerde aerobik metabolizma ile üretilirler ve bu üretim belli patolojik şartlarda artar. Fizyolojik serbest radikal olan NO süperoksit ile birleşerek reaktif oksijen türevi olan peroksit meydana gelir (1,9).



Böylece NO'nin normal etkisi inhibe edilir. Ayrıca peroksitlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO_2), hidroksil radikali (.OH) ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi daha başka toksik ürünlere dönüştürler. Bu radikaller, nöroflamentlerin, çeşitli enzimlerin ve reseptör proteinlerin nitrasyon ile harabiyetine neden olur (6,12,30).

Ca'dan bağımsız NOS'ın izoformları sitokin ve endotoksin lipopolisakkaritler tarafından damar duvarlarında indüklenerek, NO saliverilmesine neden olabilir. Bu indüksiyon endotelial ve düz kas hücrelerinin her ikisinde meydana gelir ve damarlarda relaksasyona neden olur (12,17). Ayrıca hayvanlarda endotoksin şokunda, nitrik oksit şekillenmesindeki artışın hipotansiyon derecesi ile doğrudan ilgili olduğu görülmüştür. NOS inhibitörlerinin hemorajik ve anafilaktik şoklu hayvanlarda, tümör nekrosis faktörün neden olduğu hipotansiyona karşı koruyucu olarak kullanılabileceği iddia edilmiştir. Septik şoklu hastalarda düşük dozlarda N^G monometil-L arginin standart tedaviye ilave edildiğinde, hipotansiyonun ortadan kalktığı görülmüştür. Hayvan deneylerinde NOS inhibisyon derecesinin tedavinin sonucu için önem olduğu, yüksek dozda kullanılan inhibitörlerin şiddetli vasokonstriksiyona, sonunda organ hasarına ve hızlı ölüme neden olduğu gösterilmiştir (26,34,35).

Endotoksinler, venöz düz kasta, miyokardiumda ve endokardiumda NOS'ı indükler, bu enzim tarafından artmış nitrik oksit sentezi endotoksemi ile ilgili kalp bozukluğuna ve venöz birikime iştirak edebilir. Ayrıca genişlemiş kardiomiopati, kalp disfonksiyonuyla ilişkilidir. Damarlardaki gibi kalpte nitrik oksit eNOS tarafından üretildiği zaman fizyolojik bir role sahiptir. iNOS tarafından uzun süre ve yüksek miktarlarda üretildiği zaman doku hasarı ve genişlemeye neden olarak patolojik etki gösterir (9,25,27).

Sonuç olarak, kısa bir geçmişe sahip olmasına rağmen NO üzerinde çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar NO'nin hayvan organizmasındaki etkilerine her gün bir yenisini eklemiştir. NO'nin çeşitli sistemler üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- 1-Korshland D.E., Nitric oxide, the molecule of the year. *Science*, 258:1861, (1992).
- 2-Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. :The biological significance of nitric oxide formation from L-arginine. *Biochemical Society Transactions*, 17,4:642-644, (1989).
- 3-Furchgott R.F., Zawadzki J.V.: The obligatory role of the endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288: 373-75, (1980).
- 4- Furchgott R.F.: The discovery of endothelium derived relaxing factor and its importance in the identification of nitric oxide. *J.Amer.Med.Assoc.*,276:1186, (1996).
- 5-Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S., Byrns R.E., Chaudhuri G.: Endothelium derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc.Natl.Acad. Sci.*, 84: 9265-70, (1987).
- 6- Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A.: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43: 109-142, (1991).
- 7- Forstermann U., Properties and mechanisms of production and action of endothelium-derived relaxing factor. *J.Cardiovasc. Pharmacol.* 8 (10): 45-51, (1986).
- 8- Guoyao W.U., Sidney M.Morris M.: Arginine metabolism: nitric oxide and beyond, *Biochem J.*,336: 1-17, (1998).
- 9-Fukuto J.M., Hobbs A.J., Ignarro L.J.: Conversion of Nitroxyl (HNO) to Nitric oxide (NO) in biological systems: The role of physiological oxidants and relevance to the biological activity of HNO. *Biochemical and biophysical research communications*, 196(2):707-713, (1993).
- 10-Hardy T.A., May J.M.: Coordinate Regulation of L-Arginine uptake and nitric oxide synthase activity in cultured endothelial cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 32(2): 122-131, (2002).
- 11-Stuehr D., J.: Mammalian nitric oxide synthases, *Biochem., J.*, 357: 593-615, (2001).
- 12-Moncada S., Higgs E.A.: Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. *FASEB J.*, 9(13); 1319-30, (1995).
- 13-Vilar R.E., Ghael D., Li M., Bhagat D.D., Arrigo L.M., Cowman M.K., Dweck, H.S., Rosenfeld L.: Nitric oxide degradation of heparin and heparan sulphate. *Biochem J.*, 324: 473-479, (1997).
- 14-Masters B.S.S.: Nitric oxide synthases: why so complex? *Annu.Rev.,Nutr.*,14:131-45, (1994).
- 15-Baranano D.E., Snyder S.H.: Neural roles for heme oxygenase: Contrasts to nitric oxide synthase, *PNAS* 98(20): 10996-11002, (2001).
- 16-Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G.: Nitric oxide synthases:structure, function and inhibition, *Biochem J.*, 357:593-615, (2001).
- 17-Vallance P.: Use of L-Arginine and Its analogs to study Nitric oxide pathways in humans. *Methods in Enzymology*, 269: 453-459, (1996).
- 18-Dwyer M.A., Bredt D.S., Synder S.H.: Nitric oxide synthase: Irreversible inhibition by L-NG nitro-arginine in brain in vitro and in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 176: 1136-1141, (1991).
- 19- Moncada S.: The L-arginine :nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand*, 145: 201-227, (1992).
- 20-Moncada S., Higgs A.: The L-arginine-nitric oxide Pathways. *The New England Journal of Medicine*, 30: 2002-2011, (1993).
- 21-Bredt D.S., Synder S.N.: Nitric oxide mediates glutamate-linked enhancement of cGMP levels in the cerebellum. *Proc.Natl. Acad.Sci.*, 86: 9030-9033, (1989).
- 22-Bidri M., Feger F., Varadaradjalou S., Ben Hamouda N., Guillosson J.J., Arock M.: Mast cells as a source and target for nitric oxide. *Int Immunopharmacol*, (8):1543-58, (2001).
- 23-Di Rosa M., Radomski M., Carnuccio R., Moncada S.: Glucocorticoids inhibit the induction of nitric oxide synthase in macrophages. *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 172: 1246-1252, (1990).
- 24- Gow A.J., Luchsinger B.P., Pawloski J.R., Singel D.J., Stamler J.S.: The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci*, 96: 9027-9032, (1999).
- 25- Li, H., Forstermann U.: Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J.Pathol.*, 190: 244-254, (2000).
- 26- Radomski M.W., Palmer R.M.J., Moncada S.: The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. *Biochem.Biophys. Res. Commun*, 148: 1482-1489, (1987).
- 27-Wang M.X., Murrell D.F., Szabo C., Warren R.F.,Sarris M., Murrell G.A.: Nitric oxide in skeletal muscle: inhibition of nitric oxide synthase inhibits walking speed in rats. *Nitric oxide* 5(3):219-32, (2001).
- 28- Moncada S., Radomski M.W., Palmer R.M.J., Endothelium derived relaxing factor. Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochem.Pharmacol.* 37: 2495-2501,(1988).
- 29-Chapman P.F., Atkins C.M., Allen M.T., Haley J.E., Steinmetz J.E.: Inhibition of nitric oxide synthesis impairs two different forms of learning. *Neuroreport*, 3: 567-70, (1992).
- 30-Vallance P., Moncada S., Coll J.R.: Nitric oxide from mediator to medicine. *Physicians*, 28 (3): 209-19, (1994).
- 31-Ignarro L.J., Bush P.A., Buga G.M., Wood K.S., Fukuto J.M., Rajfer J.: Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem. Biophys Res. Commun*, 170: 843-50, (1990).
- 32-Burmett A.L., Lowenstein C.J, Biedt D.S., Chang T.S.K., Synder S.H.: Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science*, 257: 401-403, (1992).
- 33-Schmidt K., Werner-Felmayer G., Mayer B., Werner E.R. :Preferential inhibition of inducible nitric oxide synthase in intact cells by the 4-amino analogue of tetrahydrobiopterin. *Eur.J.Biochem.*, 259(1-2): 25-31, (1999).
- 34-Stuehr D.J., Kwon N.S., Nathaon C.F.: FAD and GSH participate in macrophage synthesis of nitric oxide. *Biochem biophys. Res. Commun.*, 30, 168(12): 558-65, (1990).
- 35-Coleman J.W.: Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int Immunopharmacol*, 1(8):1397-406, (2001).