

## *Role of Nitric Oxide in Biological Systems: A Systematic Review*

Fatemeh Mirzaei<sup>1</sup>,  
Mozafar Khazaei<sup>2</sup>

<sup>1</sup> PhD Student in Anatomical Sciences, Student Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

<sup>2</sup> Professor, Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

(Received Jan 14, 2017; Accepted -May 1, 2017)

### **Abstract**

Nitric oxide (NO) is known as an unstable signaling molecule that can be produced by three different NO synthase (NOS) isoforms. It plays a vital role in a wide range of physiological processes in the body. For instance, in cardiovascular system NO acts as a blood vessel relaxant, while in central nervous system (CNS) it acts as a neurotransmitter. In reproductive system it regulates gonadotropin hormone, oocyte maturation, ovulation, movement of fallopian tube, contraction of uterus during labor, capacitation of sperm, erection, and ejaculation. It has been reported that NO regulates secretion, absorption and motility of gastrointestinal system. It also plays a significant role in the whole process of inflammation and dynamics of Ca<sup>+2</sup> muscles are regulated by NO concentrations. This gas also relaxes the blood vessels and airways of respiratory system. It regulates angiogenesis, apoptosis, cell cycle, invasion, and metastasis. In this review article, several studies on NO and biological processes were investigated using PubMed, Scopus, Science direct, and Web of Science. NO acts like a double-edged sword in physiology and pathology of the biological systems. Due to the important role of NO in biological systems, it can be used as a therapeutic goal in various diseases. The aim of this review article was to evaluate the importance and role of NO in biological systems and related process including inflammation, blood clotting, cancer, and metastasis.

**Keywords:** nitric oxide, nitrite, nitrate, nitric oxide synthase, biological systems

**J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27 (150):192- 222 (Persian).**

## نقش نیتریک اکسید در سیستم های بیولوژیک بدن: یک مرور سیستماتیک

فاطمه میرزایی<sup>1</sup>

مظفر خزاعی<sup>2</sup>

### چکیده

نیتریک اکسید (Nitric Oxide: NO) یک مولکول پیام‌رسان ناپایدار است که توسط سه ایزوفورم مختلف تولید می‌شود و در طیف گسترده‌ای از فرآیندهای فیزیولوژیک بدن نقش دارد. به‌عنوان مثال، در سیستم قلبی عروقی یک فاکتور شل‌کننده عروق بوده و در سیستم عصبی مرکزی به‌عنوان یک نوروترانسمیتر عمل می‌کند. تنظیم هورمون‌های گنادوتروپین، بلوغ تخمک، تخمک‌گذاری، حرکات لوله رحم، انقباضات رحم طی زایمان، ظرفیت‌یابی اسپرم، نعوظ و انزال از جمله عملکردهای این مولکول در سیستم تناسلی است. ترشح، جذب و تنظیم حرکات دستگاه گوارش نیز تحت تاثیر NO قرار می‌گیرد. NO در تمامی مراحل التهاب نقشی عملکردی دارد و عضلات تحت‌تأثیر غلظت NO دینامیک  $Ca^{2+}$  را تنظیم می‌کنند. این گاز در سیستم تنفسی نیز باعث شل‌شدن عروق و مجاری تنفسی می‌شود و نیز رگ‌زایی (آنژیوژنز)، آپوپتوز، چرخه سلولی، تهاجم و متاستاز نیز تحت‌تأثیر ترشح و غلظت NO قرار می‌گیرند. در این مقاله مروری، مطالعات مختلف مرتبط با NO و فرآیندهای بیولوژیک از پایگاه‌های علمی scopus، pubmed، medline و sciencedirect گردآوری شده و پس از بررسی اولیه، مقالات منتخب وارد مطالعه شدند. NO مانند یک شمشیر دولبه عمل کرده و عدم تعادل در میزان آن منجر به حالت‌های پاتولوژیک می‌شود. با توجه به نقش گسترده NO در سیستم‌های بیولوژیک بدن، می‌توان از آن به عنوان یکی از اهداف درمانی در بیماری‌های مختلف استفاده کرد. هدف از مقاله مروری حاضر بررسی اهمیت و نقش NO در سیستم‌های بیولوژیک بدن و همچنین فرآیندهایی همچون التهاب، انعقاد خون، سرطان و متاستاز می‌باشد.

**واژه های کلیدی:** نیتریک اکسید، نیتریت، نیترات، نیتریک اکساید سنتاز، سیستم‌های بیولوژیک

### مقدمه

مولکول پیام‌رسان عمل می‌کند و اثرات خود را از طریق تولید گوانوزین مونوفسفات حلقوی (Cyclic Guanosine Monophosphate: cGMP) به‌جا می‌گذارد. NO در بدن توسط آنزیم نیتریک اکسید

نیتریک اکسید (Nitric Oxide: NO) گازی با نیمه‌عمر کوتاه (چند ثانیه) است که اثرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متنوعی برای آن گزارش شده است. در بسیاری از سیستم‌های بیولوژیک بدن، NO به‌عنوان یک

E-mail: mkhazaei1345@yahoo.com

**مؤلف مسئول:** مظفر خزاعی - مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

1. دانشجوی دکتری علوم تشریحی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

2. استاد، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

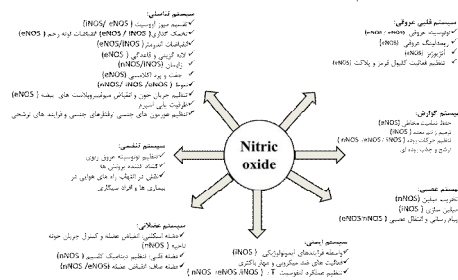
تاریخ دریافت: 1395/10/25 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1395/10/27 تاریخ تصویب: 1396/2/11

سنتاز (Nitric Oxide Synthases: NOS)، از اسید آمینه ال- آرژنین سنتز می‌شود. این آنزیم از سه ایزو فرم اصلی شامل نوع عصبی، آندوتلیال و القایی تشکیل شده است (1).

همان گونه که در تصویر شماره 1 آمده است، NO در سیستم‌های بیولوژیک بدن اثرات متفاوتی دارد، به عنوان مثال، در سیستم قلبی عروقی به عنوان فاکتور شل کننده عروقی مشتق شده از آندوتلیوم (Endothelium Derived Relaxing Factor: EDRF)

عمل می‌کند (2) و در سیستم عصبی مرکزی به عنوان یک نوروترانسمیتر عمل می‌کند. از طرف دیگر، NO در سمیت سلولی با واسطه نوتروفیل، تجمع پلاکتی، جریان خون، انتقال سیناپسی و تقویت حافظه طولانی مدت نقش دارد (3، 4) و در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک سیستم تناسلی از جمله تخمک گذاری و قاعدگی (5)، ظرفیت یابی و تحرک اسپرم (6) ایفای نقش می‌کند.

NO در سیستم گوارش نیز نقش حفاظتی داشته و در ترشح، جذب و حرکات دستگاه گوارش مؤثر است (7). از عملکردهای NO در سیستم ایمنی نیز می‌توان به آثار ضد ویروسی، ضد میکروبی، تحریک و سرکوب سیستم ایمنی و آثار سیتوتوکسیک و سیتوپروتکتیو اشاره نمود (8). از سوی دیگر، از NO به عنوان شل کننده عروقی ریوی و گشاد کننده برونش در نوزادان مبتلا به پرفشاری مزمن خون ریوی، همچنین در بیماران مبتلا به سندرم زجر تنفسی حاد و در طول عمل جراحی قلب و پیوند عضو استفاده می‌شود (9). با توجه به نقش گسترده نیتریک اکسید در بدن، در مقاله مروری حاضر، نقش آن در سیستم‌های بیولوژیک مورد بررسی قرار می‌گیرد.



تصویر شماره 1: نقش نیتریک اکساید در سیستم های بیولوژیک بدن

eNOS: Endothelial nitric oxide synthase  
nNOS: Neuronal Nitric Oxide Synthase  
iNOS: Inducible Nitric Oxide Synthase

### نقش نیتریک اکسید در سیستم قلبی عروقی

NO در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیک قلب، به ویژه در عملکرد سلول‌های سیستم عروقی نقش دارد (2) و از طریق تحریک گوانیل سیکلاز محلول (Soluble Guanylyl Cyclase: sGC) که نهایتاً منجر به تولید گوانوزین مونوفسفات حلقوی (Cyclic Guanosine Monophosphate: cGMP)

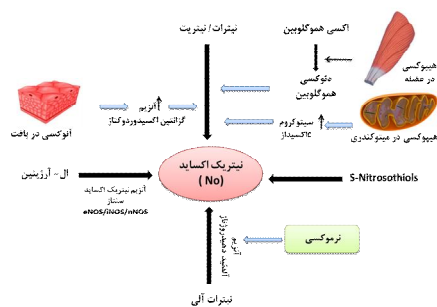
می‌شود، انقباض سلول‌های عضلات صاف عروق را تنظیم می‌کند.

NO رادیکال آزادی است که به طور بالقوه به عنوان فاکتوری درون‌زا و شل کننده آندوتلیوم عمل می‌کند (10). بعد از شناخت NO، مشخص شد که این ترکیب به عنوان یک تنظیم کننده فیزیولوژیکی در سیستم قلبی عروقی عمل می‌کند، لذا اختلال در تولید و یا فراهمی زیستی و نیز اختلال در مسیر سیگنالینگ آن به بیماری‌هایی مانند پرفشاری خون، تصلب شرایین و اختلالات عروقی می‌انجامد (2).

### منابع تولید نیتریک اکسید در عروق و بدن (تصویر شماره 2)

1- ال- آرژنین (L-arginine): ال- آرژنین یک منبع تولید NO است. سه ژن مشخص، ایزوآنزیم‌های NOS (Nitric Oxide Synthase) را کد کرده و تولید NO را کاتالیز می‌کنند که عبارت‌اند از: NOS عصبی (Neuronal Nitric Oxide Synthase: nNOS) یا NOS-1، NOS القاشونده توسط سیتوکین (Inducible Nitric Oxide Synthase: iNOS یا NOS-2) و NOS آندوتلیال (Nitric Oxide Synthase Endothelial: eNOS یا NOS-3). تولید NO از ال- آرژنین توسط NOS نیاز به حضور کوفاکتورهای مختلف از جمله تتراهیدروبیوپترین (Tetrahydrobiopterin: BH4)، فلاوین آدنین دی نکلئوتید (Flavin Adenine Dinucleotide: FAD)، و مونونوکلئوتید (Flavin Mono Nucleotide: FMN)،

سنسورهای اکسیژنی هموگلوبین و میوگلوبین در شرایط هیپوکسی به جای پاکسازی NO، سبب تولید NO می‌شوند که این حالت با انتشار NO، اتساع عروق و افزایش جریان خون به بافت هیپوکسیک را به همراه دارد. در بافت دچار آنوکسی (فقدان اکسیژن در بافت)، آنزیم گزانتین اکسیدوردوکتاز ( Xanthine Oxidoreductase) نیز باعث تولید NO از نترات و نیتريت می‌شود که این مکانیسم به عنوان یک عامل محافظتی در برابر ایسکمی عمل می‌کند (2). به طور مشابه، در شرایط هیپوکسی (پایین بودن سطح اکسیژن)، سیتوکروم اکسیداز-c (Cytochrome c oxidase)، سبب تولید NO از نیتريت در میتوکندری می‌شود و فرآیند تولید NO با کاهش pH، افزایش می‌یابد. آلدهید دهیدروژناز ( Aldehyde Dehydrogenase2: ALDH2) تحت شرایط نرمواکسیژنی (سطح نرمال اکسیژن) به طور مؤثری تبدیل ترکیبات نیتريت آلی، مانند نیتروگلیسرین را به NO کاتالیز می‌کند (2). سیتوکروم ردوکتاز P450 ( Cytochrome reductase P450) و سیتوکروم P450 (Cytochrome P450)، به ترتیب، از طریق کاهش نیتريت و نیتريت، آزادسازی NO را القاء می‌کنند (13). همان‌طور که ذکر شد، NO تولید شده توسط eNOS، یک مولکول سیگنالی کلیدی در هموستاز عروقی است (14).



تصویر شماره 2: منابع تولید نیتريك اكساید در بدن

eNOS: Endothelial nitric oxide synthase  
nNOS: Neuronal Nitric Oxide Synthase  
iNOS: Inducible Nitric Oxide Synthase

کالمودولین (Calmodulin: CaM) و پروتوپورفیرین IX (Protoporphyrin IX) دارد (10). eNOS مهم‌ترین ایزوفرم تنظیم‌کننده عملکرد عروقی است و فعالیت آن می‌تواند توسط چندین محرک، از جمله استیل کولین، برادی کینین، هیستامین و 17-بتا-استرادیول، در هر دو روش وابسته به کلسیم و مستقل از کلسیم، آغاز شده و افزایش یابد، بدین صورت که استیل کولین، برادی کینین و هیستامین، بر گیرنده‌های ویژه در غشای سلول‌های آندوتلیال عمل کرده و غلظت کلسیم درون سلولی متصل به کالمودولین را افزایش داده و منجر به فعال شدن دومین (ناحیه) اتصالی کالمودولین در eNOS می‌شوند (2).

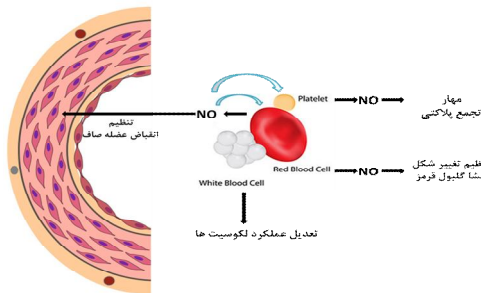
2- تولید نیتريك اكساید با واسطه S-nitrosothiols  
S-nitrosothiolها نه تنها به عنوان عوامل تنظیمی بیان NOS بلکه به مثابه منابع NO نیز عمل می‌کنند. در سلول‌های آندوتلیال، S-nitrosothiolها می‌توانند از طریق منابع اگزوزن یا از طریق NO درون‌زا، توسط eNOS تشکیل شوند. هم‌چنین یک ذخیره در گردش S-nitrosoalbumin در پلاسما وجود دارد که سطح آن دارای ارتباط مستقیم با فعالیت NOS است. بنابراین کاهش S-nitrosoalbumin سبب کاهش تولید NOS می‌شود (11).

3- تولید نیتريك اكساید با واسطه نیتريت و نیتريت:  
نیتريت و نیتريت که از محصولات متابولیسم NO هستند، به عنوان یک مخزن NO نیز عمل می‌کنند (7، 8). در واقع، تحت شرایط خاصی، آنزیم‌های مختلف می‌توانند احیاء نیتريت یا نیتريت از NO را کاتالیز کنند (2). هموگلوبین پروتئین حاوی آهن در گلبول قرمز است که در حمل و نقل اکسیژن نقش دارد. این سنسور اکسیژن در شرایط هیپوکسی سبب تولید NO از نیتريت می‌شود. هنگامی که هموگلوبین از 40-60 درصد اکسیژن اشباع و در pH حدود 6/4 است، حداکثر تولید NO از نیتريت رخ می‌دهد. میوگلوبین نیز پروتئینی آهن‌دار است که در سلول‌های عضلانی، اکسیژن به آن متصل می‌شود (12).

گلبول‌های قرمز انسان نوع فعال و کاربردی eNOS را بیان می‌کنند و این آنزیم در غشای پلاسمایی و سیتوپلاسم گلبول قرمز مکان‌یابی شده است. فعالیت NOS گلبول قرمز، تغییر شکل غشاء RBC را تنظیم کرده و مانع از فعال شدن پلاکت‌ها می‌شود (18) هم‌چنین در تعدیل عملکرد لکوسیت‌ها نیز نقش دارد (19).

#### پلاکت‌ها

NO بیش از آن‌که یک گشادکننده عروق باشد به‌عنوان یک عامل ضد تجمع پلاکتی عمل کرده و نقش مهمی در تنظیم هموستاز عروقی ایفاء می‌کند. به‌نظر می‌رسد پلاکت‌های خون نه‌تنها در هموستاز طبیعی شرکت می‌کنند، بلکه در اختلالات ترومبوتیک نیز نقش دارند (20).



تصویر شماره 3: نقش نیتریک اکسید در سلول‌های خونی. NO تولید شده توسط گلبول قرمز و پلاکت بر لکوسیت‌ها، عضلات صاف جدار عروق و همچنین پلاکت و گلبول‌های قرمز تاثیر می‌گذارد.

#### نقش eNOS در التهاب مزمن و سرطان

نیتریک اکسید یک رادیکال آزاد مؤثر در سرطان است و eNOS می‌تواند وقایع مرتبط با سرطان (آنژیوژنز، آپوپتوز، چرخه سلولی، تهاجم و متاستاز) را تنظیم کند (3). هم‌چنین NO می‌تواند با سوپراکساید واکنش داده و واسطه‌های ثانویه نیرومندی مانند پروکسی نیتریت ( Peroxynitrite: ONOO<sup>-</sup> ) و دی اکسید نیترژن (Nitrogen Dioxide: NO<sub>2</sub>) را تشکیل دهد

#### مکانیسم های تنظیمی فعالیت eNOS

eNOS دارای یک ساختار همولوگ متشکل از دو زیر واحد یکسان است. هر زیر واحد حاوی یک بخش ردوکتاز در انتهای C و یک بخش اکسیژناز در انتهای N است. بین این دو زیر واحد، دومین (ناحیه) اتصالی کالمودولین قرار گرفته که نقشی کلیدی در ساختار و عملکرد آنزیم ایفاء می‌کند. شکل هندسی هر زیر واحد دارای مکان اتصال برای نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات ( Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate: NADPH)، فلاوین آدنین دی نوکلئوتید (FAD)، فلاوین مونونوکلوئوتید (FMN)، هم (heme)، تتراهیدرو بیوپترین (BH<sub>4</sub>) و سوبسترای ال-آرژینین است. برای به‌دست آوردن فعالیت کامل کاتالیزوری در شرایط فیزیولوژیکی، حوزه اکسیژناز در N ترمینال و حوزه ردوکتاز در C ترمینال eNOS، باید در حضور هم (heme)، BH<sub>4</sub> و کمپلکس Ca<sup>2+</sup>/CaM به هم متصل شوند (15).

eNOS به‌طور کلی از طریق افزایش سطح Ca<sup>2+</sup> داخل سلولی و هجوم Ca<sup>2+</sup> خارج سلولی، فعال می‌شود. علاوه بر این، eNOS مستقل از Ca<sup>2+</sup> و توسط نیروهای مکانیکی و پروتئین G نیز فعال می‌شود (16).

Protein90 Heat Shock (HSP90) نیز به‌عنوان یک تنظیم‌کننده فعالیت eNOS شناخته شده است (3) و Bucci و همکاران (17) نشان دادند که سیگنالینگ HSP90 برای انتشار NO و عملکرد آندوتلیال بسیار مهم است.

#### نقش نیتریک اکسید در سلول‌های خونی (تصویر شماره 3)

##### گلبول‌های قرمز خون

گلبول‌های قرمز خون یک نیتریک اکسید سنتاز عملکردی را بیان می‌کنند (18) و می‌توان خون انسان، به‌ویژه گلبول‌های قرمز را به‌عنوان یکی از مخازن اصلی NO در نظر گرفت (19). شواهد حاکی از آنند که

که این واسطه‌ها اثرات سیتوتوکسیک خود را از طریق تأثیر بر متابولیسم چربی و آسیب DNA و تغییرات پس ترجمه‌ای پروتئین اعمال می‌کنند. سطوح پایین NO که توسط ایزوفرم eNOS تولید می‌شود، پاتولوژیک است و می‌تواند اثرات پیش‌سرطانی داشته باشد (21).

NO ارتباط تنگاتنگی با وضعیت التهابی دارد و به‌عنوان یک میانجی کلیدی التهاب عمل می‌کند. ایزوفورم eNOS که باعث تولید NO در حد نانومولار می‌شود، نقش مهمی در التهاب داشته و می‌تواند بیان مولکول‌های پیش‌التهابی مانند فاکتور هسته‌ای-kB (Nuclear Factor-Kappa B: NF-kB) و سیکلواکسیژناز 2 (Cyclooxygenase<sub>2</sub>:cox<sub>2</sub>) (22) و همچنین سیتوکین‌های پیش‌التهابی را تنظیم کند. باید به این نکته توجه کرد که بر اساس نوع سلول و بافت مورد بررسی، eNOS دارای هر دو نقش پیش‌التهابی و ضدالتهابی است (3). ثابت شده است که NO مشتق از eNOS، در داخل بدن نقش مهمی در برخی از وقایع اساسی التهاب، مانند چسبندگی سلولی، ارتشاح سلولی و هم‌چنین تعدیل نفوذپذیری عروق و رگ‌زایی دارد (23). بنابراین، NO مشتق از eNOS می‌تواند نقش مهمی در حفظ هموستاز در شرایط فیزیولوژیکی داشته باشد (23). مشاهدات بالینی متعدد نشان می‌دهند که اختلال در تنظیم بیان eNOS در هر دو نوع تومور سلول مخاطی و عروقی وجود دارد و عوامل پیش‌ساز تومور، مانند استروژن باعث القای بیان ژن eNOS در سلول‌های تومور می‌شود (24).

#### نقش نیتریک اکسید در آپوپتوز

NO می‌تواند به‌عنوان یک عامل آپوپتوتیک و نیز عامل آنتی‌آپوپتوتیک عمل کند (25، 26). بیش‌تر مطالعات نشان می‌دهند که در تومورهای اپیتلیال eNOS دارای نقش آنتی‌آپوپتوتیک است (3) و eNOS فاکتور نکروز دهنده تومور ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) را در سلول‌های

تومور پروستات مهار می‌کند (27، 28). آپوپتوز را از طریق افزایش سطح Bcl-2 و گوانیلات سیکلاز محلول (Soluble Guanylyl Cyclase:SGC) کاهش می‌دهد (29).

در مطالعه ما اثر نوسکاپین (Noscapine)، یک آلکالوئید جداشده از تریاک، بر قابلیت بقای سلول‌های اپیتلیال و استرومال آندومتر بررسی و نشان داده شد که نوسکاپین قابلیت بقای سلول‌های اپیتلیال و استرومال آندومتر را به‌صورت وابسته به دوز و مدت زمان تجویز به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد و موجب القای آپوپتوز می‌شود. در این مطالعه نوسکاپین، ترشح NO را در این سلول‌ها کاهش داد. در واقع غلظت بالای نوسکاپین، ترشح NO از سلول‌های استرومال و اپیتلیال آندومتر را مهار می‌کند. اگرچه در این مطالعه، کاهش NO معنی‌دار نبود اما این کاهش در سلول‌های اپیتلیال نسبت به سلول‌های استرومال، متناسب و هم‌جهت با میزان آپوپتوز این سلول‌ها بود (30).

#### نقش نیتریک اکسید سنتاز در تهاجم و متاستاز

گوانیل سیکلاز محلول (SGC) گیرنده اصلی NO در غشای سلولی است. هنگامی که NO به SGC متصل می‌شود، بخش کاتالیزوری داخل سلولی آن فعال شده و تبدیل GTP به cGMP را کاتالیز می‌کند و سپس پروتئین کیناز G (protein kinase G: PKG) و کیناز تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی (Extracellular signal-regulated kinases) فعال می‌شوند. فعال‌سازی این مسیر سیگنالینگ به‌عنوان یک علامت برای مهاجرت سلول‌های سرطانی است و گاهی ضروری در حمله سلول‌های تومور و متاستاز محسوب می‌شود (31).

NO مرتبط با eNOS می‌تواند نفوذپذیری سد خونی تومور را افزایش داده و در تهاجم تومور نقش داشته باشد. مطالعات بالینی بر نمونه‌های سرطان روده بزرگ انسان نشان می‌دهد که بیان بالای ژن eNOS با تهاجم

رشد آندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor: VEGF) و پروستاگلاندین  $E_2$  (Prostaglandin  $E_2$ : PGE<sub>2</sub>) به حساب می آید (39). با توجه به مطالعات *in vivo* می توان دریافت که کائولین 1 (caveolin1) مولکولی که با اتصال به eNOS آن را مهار می کند، باعث اختلال جریان خون تومور و نتیجتاً باعث اختلال رشد تومور می شود (18). کائولین 1 (Cavtratin) که یک پپتید به دست آمده از کائولین است و نفوذپذیری بالای آندوتلیوم عروق کوچک را کاهش می دهد، می تواند عملکرد eNOS را مهار کند و مانع پیشرفت تومور در موش شود (3). سوماتوستاتین نیز رگ زایی تومور را از طریق مهار eNOS مهار می کند (40).

نقش آندوتلیال نیتریک اکسید سنتز در تجدید ساختار عروقی

eNOS ویژگی هایی دارد که حاکی از نقش آن به عنوان یک میانجی تجدید ساختار عروقی است. نیروهای مکانیکی ناشی از جریان خون و فشار خون عامل آزاد شدن حاد NO است و فعال سازی طولانی مدت آن باعث القا بیان eNOS در هر دو محیط *In vitro* و *In vivo* می شود (41، 42). NO به عنوان یک گشاد کننده قوی عروق شناخته شده است (42، 43) که تحریک، تکثیر و مهاجرت سلول های عضلات صاف عروق (44، 45)، تشکیل اینتیمای جدید پس از آسیب عروقی (46)، نقل و انتقال سلول های آندوتلیال و تشکیل عروق جدید (47، 48) و تجدید ساختار ماتریکس خارج سلولی (49) را در محیط کشت مهار می کند. در مجموع، این وقایع برای بازسازی دیواره عروق خونی امری ضروری هستند.

نقش نیتریک اکسید در سیستم عصبی

nNOS و eNOS در سیستم عصبی مرکزی بیان می شوند و دارای چندین نقش اساسی، از جمله

عروقی سلول های تومور از جمله سلول های سرطانی تروفوبلاست، در ارتباط است (32). به نظر می رسد eNOS مهاجم سلول ها را با مهار کننده بافتی متالوپروتئیناز 2 و 3 (Metalloproteinase 2,3: TIMP-2, TIMP-3) تحریک می کند (33) و NO مشتق از ماکروفاژ نیز می تواند باعث مهار رشد و تکثیر سلول های کشنده تومور در شرایط برون تن شود (34).

Sushek و همکاران (35) دریافتند که iNOS در سلول های تومورهای مغزی، پستان، ریه و روده بزرگ بیان می شود و NO می تواند تکثیر سلول های T را مهار و یا آپوپتوز آنها را القا کند، که همین باعث سرکوب سیستم ایمنی بدن میزبان می شود. در مقابل، مطالعه Kwak و همکاران (36) نشان داد که مرگ سلول های توموری را می توان با القاء iNOS در سلول های سرطانی ایجاد کرد. این iNOS در پاسخ به اینترفرون گاما (Interferon gamma: IFN $\gamma$ ) و فاکتور نکروز دهنده تومور (Tumor Necrosis Factor: TNF) که توسط لنفوسیت های سیتوتوکسیک آزاد می شوند، تولید می شود. تحقیقات بیشتر توسط Xu و همکاران (37) تأیید کرد که iNOS بیان شده توسط تومور، قادر به القای رشد و تشکیل عروق جدید و مهاجم تومور از مسیر ایجاد جهش در ژن P53، با دخالت فاکتور رشد آندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor: VEGF) است. همچنین، قرارداد سلول های تومور در معرض NO، سبب تنظیم مجدد زیر واحد کاتالیتی یکی از پروتئین کینازهای وابسته به DNA که برای ترمیم شکست های DNA ضروری است، می شود (38).

نقش نیتریک اکسید در رگ زایی

در مدل های کشت سلولی، eNOS نقش اساسی در تکثیر سلول آندوتلیال بازی می کند و میانجی مهمی برای برخی از مواد محرک رشد آندوتلیوم، مانند عامل

برابر تخریب میلین ناشی از کوپریزون محافظت شدند (54).

سطوح بیش از حد NO در مغز با آسیب بافتی ناشی از ایسکمی مغزی و سایر فرآیندهای تحلیل عصبی مرتبط است (55). از آنجا که NO هم در اعصاب مرکزی و هم در اعصاب محیطی از طریق تغییر شکل آرژنین به سیتروکسین توسط nNOS تولید می‌شود، دارویی که سرکوب‌کننده تولید محصولات NO از طریق مهار nNOS باشد، می‌تواند به‌عنوان درمانی امیدوارکننده برای برخی از انواع بیماری‌های عصبی مورد استفاده قرار گیرد (56). با توجه به خواص eNOS در تعدیل فشار خون، شناسایی یک مهارکننده nNOS که دارای تعامل حداقلی با eNOS باشد، اهمیت به‌سزایی دارد (57). تعادل بین اثرات مثبت و منفی NO مشتق از nNOS در مغز پیچیده است و باید به‌دقت سنجیده شود (58).

#### نقش نیتریک اکسید در سیستم عضلانی

##### nNOS در عضله اسکلتی

در عضله اسکلتی، سطح بالایی از nNOS (59) جهت انقباض عضله (60) و کنترل جریان خون ناحیه حضور دارد (58). عضلات اسکلتی دارای ایزوفرم نیتریک اکساید سنتاز میکرو (nNOS $\mu$ ) هستند. NO در عضلات در حال انقباض تولید می‌شود و با فعال کردن گوانیل سیکلاز محلول (SGC)، باعث گشاد شدن عضلات صاف جدار عروق می‌شود (58). nNOS $\mu$  عضله اسکلتی به کمپلکس پروتئین همراه با دیستروفین باند می‌شود. نکته مهم این است که جهش دیستروفین (Dystrophin) (59) و سارکوگلیکان (Sarcoglycan) (61) که زمینه‌ساز دیستروفی عضلانی انسان است، باعث از بین رفتن nNOS $\mu$  در غشاء سلول‌های عضلانی می‌شود و لذا جریان خون موضعی را مختل می‌کند (58).

پیام‌رسانی درون سلولی و انتقال عصبی هستند (50). در سیستم عصبی مرکزی، بیان iNOS قابل توجه نیست، مگر این که تحریک سلولی رخ دهد و پس از تحریک، iNOS توسط انواع مختلفی از سلول‌ها، مانند ماکروفاژها، میکروگلیا، آستروسیت‌ها (51)، الیگودندروسیت‌ها و حتی سلول‌های آندوتلیال تولید می‌شود (52).

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که NO ممکن است در پاتوژنز بیماری‌های مختلف التهاب عصبی / دژنراتیو درگیر باشد (53). nNOS نقشی کلیدی در تخریب میلین سیستم عصبی مرکزی دارد (4). NO در بیماری‌هایی مانند مولتیپل اسکلروز (Multiple Sclerosis: MS) اثر مخربی بر میلین‌سازی به‌جای می‌گذارد. در سیستم عصبی مرکزی، الیگودندروسیت‌ها، در مقایسه با سایر سلول‌های گلیال، بیش‌ترین حساسیت را نسبت به NO دارند و ممکن است مرگ الیگودندروسیت مکانیسم اصلی در پاتوفیزیولوژی MS باشد (4).

بر اساس گزارش Arnett و همکاران (54)، نیتریک اکسید تولیدشده توسط iNOS تاحدی از دمیینه‌شدن نورون‌ها محافظت می‌کند. بیان iNOS معمولاً همراه با شرایط التهابی است و توسط انواع رده‌های سلولی مونوسیتی - ماکروفاژی به‌میزان بسیار زیادی تولید می‌شود. NO مشتق از iNOS به‌صورت موضعی از سلول‌های التهابی و در پاسخ به محرک‌های التهابی CNS آزاد می‌شود. iNOS قادر به تولید مقادیر بیشتری از NO در مقایسه با ایزوفرم‌های nNOS و eNOS است. در مطالعه‌ای با استفاده از مدل ایجادشده توسط داروی کوپریزون (Cuprizone)، نقش iNOS در دمیینه‌شدن و میلین‌سازی مجدد بررسی شده است. محققان دریافتند که موش‌های فاقد iNOS افزایشی جزئی در میزان تخریب میلین در جسم پینه‌ای نشان دادند، و موش‌های فاقد nNOS به‌طور کامل در



*nNOS* در عضله قلب

سیتوپروتکتیو، ضد ویروسی، ضد میکروبی، تحریک و سرکوب سیستم ایمنی است. NO نقش کلیدی در تمام مراحل عفونت دارد و دارای طیفی متنوع و تاحدودی متضاد از فعالیت هاست. eNO بیان شده در ماکروفاژها نیز قادر است این سلولها را برای کشتن سلولهای تومور و باکتری، فعال کند (8).

nNOS $\mu$  در شبکه سارکوپلاسمی عضله قلب قرار گرفته است (62). نقش nNOS در میوسیت های قلب پیچیده است و ممکن است از طریق فعال سازی گیرنده ریانودین (Ryanodine Receptor: RyR)، مهار (sarco/endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase: SERCA) SR  $Ca^{2+}$  ATPase و یا کانال  $Ca^{2+}$  و یا از طریق افزایش سطح پروتئین فسفولامبان (Phospholamban: PLB)، دینامیک  $Ca^{2+}$  را تنظیم کند (63). وجود دیستروفی عضلانی در نقایص قلبی با مهار بیان nNOS قلبی مرتبط است (64).

*nNOS* در عضله صاف

تولید NO در سیستم ایمنی و مکانیزم های تنظیم آن تولید NO کلید اصلی بسیاری از قابلیت ها و ویژگی های سلول های ایمنی از جمله سلول های دندریتیک، NKها، ماست سلها، ماکروفاژها و دیگر فاگوسیت ها است. هر دو  $iNOS$  و  $eNOS$  در تمام این سلول ها یافت می شود، اما شواهد کافی مبنی بر بیان ایزوفرم های NOS توسط لنفوسیت اولیه T یا B در دست نیست (34). هر سه ایزوفرم NOS طی یک پاسخ ایمنی بیان می شوند و هر سه آنها فرآیندهای تنظیمی مشابهی دارند. با این حال، به این دلیل که ژن های  $eNOS$  و  $nNOS$  در داخل سلول ایفای نقش می کنند، فعالیت آنها توسط افزایش سطح  $Ca^{2+}$  و کالمودولین تغییر می کند، در حالی که  $iNOS$  تحت تأثیر محرک مناسب ساخته می شود و پروموتور ژن آن از طریق سیتوکین ها تنظیم می شود (69). برخی از عوامل رونویسی شرکت کننده در بیان ژن  $iNOS$  عبارتند از NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor- $\kappa$ B)، AP-1 (Activator protein1) و STAT-1 $\alpha$  (Signal Transducer and Activator of Transcription1) (38).

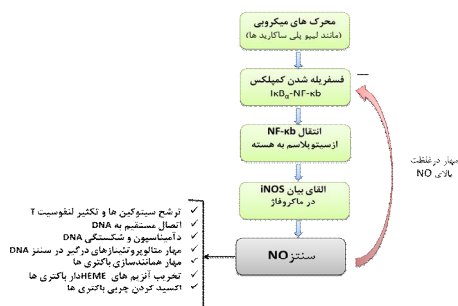
ماکروفاژها سلول های اصلی بیان کننده  $iNOS$  هستند (70). به نظر می رسد ماکروفاژهای انسانی،  $iNOS$  را تنها تحت شرایط خاصی بیان می کنند (71) و NO مشتق از ماکروفاژ می تواند هم به عنوان یک مولکول بسیار سمی و هم به عنوان یک مولکول تنظیم کننده تکثیر لنفوسیت های T و ترشح سیتوکین ها عمل کند (72). (تصویر شماره 4).

NO حاصل از  $eNOS$  در تنظیم فیزیولوژی شریان و فشار خون اهمیت دارد و شناسایی nNOS و  $nNOS\mu$  در عضله صاف عروق (65) نشان می دهد که  $nNOS$  نیز در تنظیم پرفیوژن عروقی شرکت می کنند. بنابراین، NO مشتق از عضله اسکلتی نیز ممکن است عروق خونی را شل کند و این موضوع نشان می دهد که NO حاصل از ژن  $eNOS$  منحصراً تنظیم کننده تون عروق نیست (58).

## نقش نیتریک اکسید در سیستم ایمنی

$iNOS$  به طور معمول تحت شرایط فیزیولوژیکی بدن بیان نمی شود بلکه واسطه های التهابی مانند سیتوکین یا اندوتوکسین ها، باعث شکل گیری سریع آن می شوند (66). یکی از ویژگی های بارز این ایزوفرم این است که برای فعال شدن به افزایش سطح  $Ca^{2+}$  سلولی نیاز ندارد (67). فعال سازی  $iNOS$  منجر به تولید مقادیر میکرومولار از NO (بسیار بالاتر از سطح نانومولار تولید شده توسط ژن  $eNOS$  و  $nNOS$ ) می شود (68). Cuzzocrea و همکاران با استفاده از موش های  $iNOS$  به این نتیجه رسیدند که NO واسطه طیف وسیعی از فرآیندهای ایمونولوژیکی است. عملکردهای NO در سیستم ایمنی شامل اثر سیتوتوکسیک و

مستقل از  $Ca^{2+}$  است و در سلول‌های در حال استراحت بیان نمی‌شود بلکه در پاسخ به سیتوکین‌های التهابی و یا محرک‌های میکروبی (LPS) بیان می‌شود (38). نیتریک اکسید تولیدشده می‌تواند از طریق اتصال مستقیم به رشته DNA، دامیناسیون و شکستگی آن را القا کند و از طریق اختلال در مهار متالوپروتئین‌های درگیر در سنتز DNA، همانندسازی باکتری‌ها را مهار کند. نیتریک اکسید هم‌چنین می‌تواند با تخریب آنزیم‌های باکتریایی هم‌دار (Heme) و اکسید کردن چربی‌ها باعث اختلال در عملکرد باکتری‌ها شود. عفونت ویروسی از طریق اثر مهاری NO بر رونویسی و فعال‌سازی پروتئازهای درگیر در ورود ویروس به سلول‌ها مهار می‌شود (72). در واقع، شواهد بسیاری مؤید نقش NO در پاسخ‌های ایمنی تطبیقی مرتبط با خود ایمنی و بیماری‌های آلرژیک است (16). نقش NO در تنظیم لنفوسیت T در برخی از بیماری‌های مرتبط با ایمنی، از جمله آرتریت روماتوئید، آسم، دیابت، لوپوس اریتماتوی سیستمیک و شوک سپتیک مطرح شده است (17). در حال حاضر، در رابطه با اینکه آیا NO بیماری‌های خودایمنی و التهاب مزمن آلرژیک را تشدید می‌کند و یا کاهش می‌دهد، بحث وجود دارد (78).



تصویر شماره 4: القای بیان iNOS توسط محرک‌های میکروبی.

IκBα-NF-κB: Inhibitor κBα-Nuclear Factor-κB  
NF-κB: Nuclear Factor-κB

#### بیان iNOS و عملکرد سلول‌های T

بیان iNOS و تولید NO مشخصه سلول‌های درگیر در پاسخ‌های ایمنی است و سلول‌های دندریتیک و NKها،

No تولیدشده از iNOS از طریق مکانیسم‌های مختلف منجر به فرآیندهای ضد میکروبی می‌شود (73) و بسته به محرک میکروبی یا سیتوکینی، مسیرهای پیام‌رسانی متفاوتی فعال می‌شوند که هر کدام از آنها افزایش یا مهار بیان iNOS را به همراه دارند. NF-κB در سیتوزول به‌عنوان یک مجموعه IκBα (Inhibitor κBα) و به‌صورت غیرفعال حضور دارد. هنگامی که یک القاء کننده، مانند لیپوپلی ساکارید (Lipopolysaccharide: LPS)، باعث تحریک سلول می‌شود، در نتیجه کمپلکس IκBα-NF-κB Inhibitor (NF-κB NuclearFactor-κB) فسفریله ده و با انتقال NF-κB به هسته، بیان ژن iNOS را القاء می‌کند (74). مطالعات Musial و Eissa، سرکوب القا iNOS از طریق بلاک کردن و تخریب IκB، توسط برخی از ترکیبات را تأیید می‌کند (75).

سطح NO نیز می‌تواند تولید خود را تنظیم کند، به‌طوری که به دنبال تحریک اولیه ماکروفاژ توسط سیتوکین‌ها، هنگامی که غلظت NO کم است، تنظیم مثبت NFκB انجام می‌شود و بنابراین iNOS تولید می‌شود (فیدبک مثبت). در شرایط بالا بودن NO، فرایند عکس رخ می‌دهد (فیدبک منفی) که این می‌تواند یک مکانیزم کمک‌کننده جهت جلوگیری از تولید بیش از حد NO و آسیب‌های مرتبط با آن باشد (76). بر اساس مطالعه Perez-Sala و همکاران (77)، اثر دوسویه سنتز NO از طریق مهار NFκB میانجی‌گری می‌شود. NFκB در مسیر پیام‌رسانی می‌تواند به‌عنوان یک نقطه مداخله بالقوه برای درمان بیماری‌های التهابی مد نظر قرار گیرد. ترکیب خاصی از سیتوکین‌ها (LPS با  $\gamma$ IFN) قادر به القای بیان iNOS هستند. آن‌ها از طریق مسیر (JanusKinase/ Signal ) JAK/STAT (Transducers and Activators of Transcription) که در آن STAT1 فعال وارد هسته شده و سطح IRF-1 (Interferon Regulatory Factor1) را افزایش می‌دهد، سبب القاء تولید iNOS می‌شوند.

جالب توجه این که کمبود هیستامین باعث افزایش بیان nNOS و افزایش تولید NO در لنفوسیت های T طحال موش می شود و این موضوع نشان می دهد که هیستامین به طور منفی تولید NO در لنفوسیت های T را تنظیم می کند (86). لنفوسیت های T از طریق پپتیدهای آنتی ژن پاتوژن ها، محرک های خارج سلولی مانند قارچ و باکتری و اندوتوکسین ها و سیتوکین ها، ماکروفاژها را برای بیان iNOS فعال می کنند و با انتشار NO، مانع از تکثیر پاتوژن می شوند (72).

نقش نیتریک اکسید در چسبندگی لکوسیتی و کموتاکسی

مطالعات مختلف نشان می دهند که NO مانع از چسبندگی پلاکت ها و لکوسیت به آندوتلیوم می شود (87). اگرچه کموتاکسی لکوسیت از NO تأثیر می پذیرد، اما این کموتاکسی می تواند از طریق محصولات کموکاین ها نیز تنظیم شود (34). مطالعه Cheria و همکاران (80) نشان می دهد که NO قادر به مهار فعالیت کموکاین هایی مانند IL8 است و به عنوان یک پیام رسان داخل سلولی در مسیرهای سیگنالینگ کموکاین ها عمل می کند.

نقش نیتریک اکسید در تیموس

به دلیل ظرفیت NO در القاء آپوپتوز، بسیاری از محققان نقش احتمالی آن را در تیموس بررسی کرده اند. تیموسیت های انسان فاقد NOS هستند. با این حال، سلول های اپی تلیال و دندریتیک در مدولا و در محل اتصال کورتکس و مدولا بیان iNOS را نشان داده اند و این بیان بیش تر پس از تماس با آنتی ژن های خودی رخ می دهد (88). Moullan و همکاران (89) نشان دادند که گیرنده سلول های T (T-Cell Receptor: TCR) به NO حساس است و بیان eNOS در شبکه آندوپلاسمی تیموسیت های رت می تواند نقش مهمی در القاء آپوپتوز وابسته به  $Ca^{2+}$  در میتوکندری بازی کند.

ماکروفاژها، ائوزینوفیل ها، ماستوسیت ها، نوتروفیل ها و انواع سلول های ویژه بافت مرتبط با دفاع میزبان (سلول های آندوتلیال، اپیتلیال، میوسیت، فیبروبلاست، کراتینوسیت، سلول های کبدی و سلول های گلیال)، منابع مهم NO هستند. هم چنین بیان هر دو ژن iNOS و eNOS در ماکروفاژ، سلول های دندریتیک و NK ها گزارش شده است (34)، در حالی که ژن iNOS به تنهایی فقط در رده سلول های B آلوده به ویروس های بورکیت و اپشتاین - بار (Epstein-Barr and Burkitt) بیان می شود. کنترل عملکرد لنفوسیت T و تکثیر آن بسیار مهم است و از دست دادن این تعادل منجر به تکثیر کنترل نشده یا کاهش بیش از حد لنفوسیت های T دخیل در بیماری های خودایمنی و نقص ایمنی می شود (72). با استفاده از تشخیص الکتروشیمیایی گاز NO و یا از طریق پروب فلورسنت، می توان تولید NO توسط سلول های T در پاسخ به میتوژن ها و عوامل القاء کننده آپوپتوز را اثبات کرد (79، 80). مطالعات دیگر نیز بیان NOS در سلول های T را تأیید می کنند (81).

رده سلول T انسانی و لنفوسیت های T اولیه، eNOS را بیان می کنند (82). افزون بر این، لنفوسیت های  $T\gamma\delta$  (زیرمجموعه ای از سلول های T داخل اپیتلیالی درگیر در خط مقدم دفاع در برابر عوامل بیماری زا)، ژن eNOS را بیان می کنند. این محافظت سلولی از طریق یک مکانیسم وابسته به cGMP، از طریق آپوپتوز وابسته به CD95 انجام می شود (83).

eNOS نقش مهمی در سازماندهی تعاملات ایمنی بدن و وقایع فعال شدن سلول T ایفا می کند و باعث افزایش  $\zeta$ CD3، ZAP-70 (Zeta-Chain-Associated Protein) و Kinase 70 و  $IFN-\gamma$ ، فسفوریلاسیون کینازهای تنظیم کننده سیگنال خارج سلولی (Extracellular signal-Regulated Kinases: ERK) و کاهش سنتز IL-2 می شود (84). بیان و فعالیت nNOS نیز در سلول های T انسان و موش گزارش شده است (85).

نقش NO در سیستم تولید مثل

اووسیت

مکانیسم‌های درگیر در تنظیم چرخه سلولی میوز در تخمک به‌طور کامل شناخته نشده است، اما شواهد قابل توجهی مبنی بر درگیری NO در کنترل میوز وجود دارد. NO به‌عنوان یک ریزفاکتور حیاتی تخمک در طی بلوغ تخمک، لقاح و آغاز رشد جنین دارای نقش فیزیولوژیکی است (90).

eNOS و iNOS در تخمک پستانداران بیان می‌شوند و حضور آنها در طی تشکیل و بلوغ فولیکول تأیید شده است. مهار سنتز NO در بلوغ تخمک‌ها در محیط آزمایشگاهی (In Vitro Maturation: IVM) منجر به کاهش تعداد بلاستوسیست و افزایش آپوپتوز در جنین می‌شود. از سوی دیگر، گزارش شده است که سطح بالای NO منجر به اختلال در پیشرفت میوز و رشد و نمو جنین در گاو شده و دهندگان NO مانع و یا موجب تأخیر از سرگیری میوز در رت می‌شوند در حالی که مهارکننده‌های اختصاصی iNOS از سرگیری میوز را القاء می‌کنند (90).

Goud و همکاران (91) تأیید کرده‌اند که NO نقش مهمی در حفظ کیفیت اووسیت ایفا می‌کند. با بررسی مطالعات صورت گرفته می‌توان به نقش دوگانه NO در بلوغ تخمک پی برد به‌طوری که Bu و همکاران (92) نشان دادند بسته به غلظت، NO اثرات متفاوتی بر بلوغ تخمک موش اعمال می‌کند: NO مشتق از eNOS سلول‌های کومولوس، موجب تحریک بلوغ میوز تخمک‌ها می‌شود، در حالی که غلظت‌های بالاتر NO می‌تواند باعث توقف میوز تخمک شود. کاهش NO پس از افزایش ناگهانی LH پیش از تخمک‌گذاری ممکن است عاملی کلیدی برای از سرگیری میوز باشد. یافته‌های مختلف نشان می‌دهد که تخمک از طریق بیان iNOS دارای توانایی تولید سطوح کافی NO جهت توقف میوز در مرحله دیپلوتن است (93). Abbasi و همکاران پیشنهاد کردند که اثر تحریکی NO بر

از سرگیری میوز تخمک موش به‌واسطه cAMP است، در حالی که مسیر cGMP واسطه اثر مهاری NO می‌باشد (94).

نیتریک اکسید و رشد فولیکول

گنادوتروپین‌های هیپوفیز به‌طور آشکار به‌عنوان تنظیم‌کننده کلیدی مراحل نهایی تکامل فولیکول مورد تأیید واقع شده و شواهد موجود بر اهمیت تعادل عوامل اتوکراین یا پاراکراین در رشد طبیعی فولیکول تأکید دارد. حضور NO در مایع فولیکولی در چندین گونه جانوری تأیید و بیان NOS در فولیکول نشان دهنده حضور یک سیستم داخل تخمدانی تولید NO و نقش آن در کنترل رشد فولیکول است. NO در تخمدان می‌تواند توسط چندین سلول تخمدانی و نیز در عروق تخمدانی تولید شود. ماکروفاژهای حاضر در بافت تخمدان نیز به‌عنوان یک منبع NO در نظر گرفته می‌شوند (6).

تخمدان

ژن‌های eNOS و iNOS به‌طور همزمان روند تخمک‌گذاری را تنظیم می‌کنند (6). سنتز NO با رشد فولیکول افزایش می‌یابد و افزایش NO وابسته به افزایش استروژن است. تغییرات مشابهی در غلظت NO در گردش، با رشد فولیکول در زنان تحت لقاح آزمایشگاهی و تحت درمان مداوم با هورمون آزادکننده گنادوتروپین (Gonadotropin-Releasing Hormone: GnRH) و گنادوتروپین جفتی انسانی (Human Chorionic Gonadotropin: HCG) و هورمون‌های دیگر مثل هورمون لوتئینی (Luteinizing hormone: LH)، هورمون محرک فولیکول (Follicle-Stimulating hormone: FSH) و پروژسترون مشاهده شده است (5).

استفاده از مهارکننده‌های NOS، به‌صورت داخل صفاقی، باعث مهار تخمک‌گذاری در رت‌ها می‌شود

سنتز NO را تحریک می‌کند، پس این امکان وجود دارد که NO و گلوکز رشد فولیکول را به یک روش ویژه تسهیل کنند (6).

Sugino و همکاران (97) ارتباط بین غلظت NO در مایع فولیکولی و آپوپتوز را مطالعه کردند و نشان دادند که در مقایسه با فولیکول‌های بزرگ و متوسط، فولیکول‌های کوچک‌تر، آپوپتوز بیشتری نشان می‌دهند. با وجود این، غلظت NO (نیتریت / نیترات)، آرژنین و سیترونین در این فولیکول‌ها متفاوت نبوده است. هم‌چنین، غلظت NO در مایع فولیکولی انسانی افزایش می‌یابد و این افزایش با حجم فولیکول و غلظت استرادیول رابطه مستقیم دارد. در مجموع، این مشاهدات نشان می‌دهند که تولید موضعی NO باعث توسعه فولیکول و مانع آپوپتوز می‌شود (98).

#### لوله رحمی

در لوله‌های رحمی، افزایش انقباض ناشی از آندوتلین در حضور Methyl L-NG-Nitro-Arginine Esterhydrochloride (L-NAME) که مهارکننده سنتز NO است، اولین مدرک برای نقش NO در تنظیم عملکرد لوله رحمی بوده است (5). NO فعالیت انقباضی در لوله فالوپ انسان را تنظیم می‌کند (99). مطالعات مختلف (100)، (101) حضور وابسته به کلسیم و همچنین اشکال مستقل از کلسیم NOS در لوله فالوپ رت، گاو و انسان را تأیید می‌کنند و هم‌چنین بررسی‌های ایمنوهِیستوشیمی حضور eNOS در سلول‌های اپیتلیال لوله‌های رحمی را تأیید می‌کنند. IL-1B تحریک‌کننده سنتز NO در مجاری فالوپ انسان و گاو است (6).

اگرچه فعالیت NOS در لوله رحمی در طول فاز پرواستروس نسبت به دیگر مراحل چرخه استروس نسبتاً کمتر است، اما توزیع NOS وابسته به کلسیم در تنگه، شرابه و آمپول لوله رحم یکسان است (101). به نظر می‌رسد ترشح NO می‌تواند تحرک اسپرم را تحریک کند و تخمک و هم‌چنین اسپرم را در برابر آسیب‌های ناشی از

که این شواهد حاکی از نقش NO در فرآیندهای تخمک‌گذاری است (95). اگرچه یافته‌های فوق نشان می‌دهد که NO در تنظیم عملکرد تخمدان نقش دارد (96). تحریک تخمدان با گنادوتروپین‌ها باعث افزایش بیان هر دو ژن eNOS و iNOS می‌شود و این موضوع نشان می‌دهد که هر دو ایزوفرم NO در روند تخمک‌گذاری نقش دارند. مهار iNOS با استفاده از مهارکننده‌های خاص NG متیل-ال-آرژنین (NG-Methyl-L-arginine) و بازدارنده آمینوگوانیدین (Aminoguanidine) منجر به مهار وابسته به دوز تخمک‌گذاری در رت‌ها می‌شود که این موضوع بیان‌گر نقش iNOS در روند تخمک‌گذاری است (95). در طی رشد فولیکولی، eNOS در سلول‌های تکا و در سلول‌های گرانولوزای دیواره فولیکول بیان می‌شود و پس از تخمک‌گذاری نیز eNOS در سلول‌های جسم زرد بیان می‌شود. در تخمدان نابالغ و در طی تکامل فولیکولی، بیان iNOS در سلول تکا و استروما رخ می‌دهد و پس از تخمک‌گذاری، iNOS در لایه‌های خارجی جسم زرد بیان می‌شود. برآورد کمی از iNOS نشان می‌دهد که بر خلاف eNOS، غلظت iNOS در طول رشد فولیکولی تغییر نمی‌کند (6).

از آن‌جا که سلول‌های تکا، سلول‌های گرانولوزای لوتال و سلول‌های جسم زرد در استروئیدوژنز درگیرند، قابل تصور است که NO نیز در تنظیم سنتز استروئید نقش داشته باشد. در اکثر ارگان‌های بدن، iNOS تنها در پاسخ به یک تحریک ایمنی بدن مانند عفونت یا تروما بیان می‌شود و ارتباط فیزیولوژیک بیان iNOS در تخمدان طبیعی در تمام مراحل نامشخص است. این امکان وجود دارد که این بیان اهمیت کاربردی نداشته باشد و عمدتاً به دلیل حضور ماکروفاژها و IL-1 $\beta$  در تخمدان باشد و نیز ممکن است که NO مشتق از iNOS به‌عنوان یک مولکول نظارتی رشد عمل کند. از طرفی، گلوکز در اواسط چرخه قاعدگی افزایش می‌یابد و گلوکز

رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت کند (6). هم‌چنین NO ممکن است بر حرکات سلول‌های مژه‌دار اپیتلیال لوله رحم تأثیرگذار باشد. نشان داده شده است که NO بر تنظیم گیرنده عوامل رشد مانند فاکتور رشد اپیدرمی و هم‌چنین تنظیم پروتئین‌های اتصال و اینتگرین‌ها نیز نقش دارد (102). در مقابل وضعیت فیزیولوژیکی، سنتز NO در لوله رحمی ممکن است تحت شرایط خاص پاتولوژی، مانند عفونت یا آندومتر یوز افزایش یابد و منجر به کاهش باروری از طریق اثر زیان‌بار یا سمی بر روی اسپرم و هم‌چنین اووسیت شود. افزون بر این، افزایش تولید NO ممکن است حرکات مژه‌ها و نتیجتاً انتقال جنین را تحت تأثیر قرار دهد و در نتیجه منجر به سقط جنین شود (6).

#### نیتریک اکسید و رحم

از آن‌جا که NO انقباض سلول‌های عضلانی صاف و انقباض خودبه‌خود و هم‌چنین اتساع رحم در دوران بارداری را تنظیم می‌کند، نقش NO در تنظیم پاتوفیزیولوژی و زیست‌شناسی رحم مورد توجه زیادی قرار گرفته است (103). وجود NOS در اپیتلیوم غده‌ای، سلول‌های استرومای آندومتر، سلول‌های عضله صاف میومتر و ماست سل‌ها، حاکی از نقش موضعی NO در کنترل عملکرد رحم است. به علاوه، سنتز موضعی NO در رحم، ممکن است برای تنظیم فعالیت میومتر، به‌عنوان مثال در انقباض خود به خود و شل شدن رحم، اهمیت داشته باشد (104). اگرچه سلول‌های عضله صاف میومتر eNOS را بیان می‌کنند (105) اما میومتر یکی از بافت‌های نادر است که iNOS را حتی در شرایط غیرتحریکی نیز بیان می‌کند (106).

یافته‌های فوق، همراه با این مشاهدات که (1) به منظور تسهیل خروج جفت باقی‌مانده، نیتروگلیسرین باعث شل شدن رحم می‌شود، (2) نیتروگلیسرین زایمان زودرس را منحل کرده و طول مدت بارداری را افزایش می‌دهد، (3) آمیل نترات قدرت انقباضات رحمی ناشی از اکسی‌توسین را کاهش می‌دهد و (4) دهندگان NO،

انقباضات رحمی را در میمون زروس باردار، گوسفند و موش و هم‌چنین انسان مهار می‌کند، نشان می‌دهند که، NO به طرق متفاوتی انقباض رحمی را در طول بارداری و زایمان کنترل می‌کند (6).

با توجه به تنظیم سنتز NO در دوران بارداری و زایمان می‌توان دریافت که eNOS (نه eNOS) نقشی کلیدی در تنظیم عملکرد انقباضی دارد و در دوران بارداری فعالیت NOS در رحم رت افزایش می‌یابد (107). علاوه بر این، مطالعه Bansal و همکاران (108) نشان داد که بیان iNOS در میومتر انسان در زایمان پیش از موعد بالاترین مقدار را داشته است. این امکان وجود دارد که افزایش فعالیت NOS در دوران بارداری به دلیل تنظیم مثبت سیتوکین‌ها و کاهش پس از آن در طول زایمان تا حد زیادی با سیتوکین‌های مهاری مرتبط باشد. ارتباط متقابل بین مسیر سیکلواکسیژناز، نیتریک اکسید و سیتوکین نیز در رحم موش اثبات شده است و ممکن است این عوامل، تنظیم‌کننده عملکرد رحم در دوران بارداری باشند (109).

هورمون‌های تخمدان نیز بیان iNOS را در رحم القا می‌کنند و ممکن است عملکرد رحم را تنظیم کنند. با وجود این، نقش eNOS در سلول‌های اپیتلیال و استرومای آندومتر هنوز نامشخص است. این امکان وجود دارد که تولید مداوم NO، از طریق سنتز پروستاگلاندین و به‌واسطه پروتئین‌های اتصال، تسهیل‌کننده فرآیندهایی مانند قاعدگی و لانه‌گزینی باشد. NO مشتق از eNOS ممکن است از طریق فعال‌سازی تولید گوانیل سیکلاز محلول و یا از طریق تجزیه سیکلواکسیژناز به‌عنوان مهارکننده تجمع پلاکت آندومتر عمل کند (6). در یک مطالعه نشان دادیم که سildenafil (Sildenafil) که فعال‌کننده گوانیل سیکلاز است، در دوز 10 میکرومولار سبب تکثیر سلول‌های اپیتلیال آندومتر انسانی شد اما تغییر نیتریک اکسید معنی‌دار نبود (110).

بیان ژن eNOS، در عروق جنین و جفت افراد مبتلا به پره اکلامپسی پاسخی انطباقی به پرفیوژن اندک و هیپوکسی باشد. داده‌های حاصل از مطالعات Buhimschi و همکاران (106) نشان می‌دهد که تجویز L-NAME به موش باردار منجر به وضعیتی مشابه بیماری پره اکلامپسی می‌شود.

#### نیتریک اکسید در نعوظ

در انسان، فعالیت NOS در قسمت‌هایی از جمله شبکه لگنی، اعصاب سینوس کاورنوس در بافت جسم نعوظی، شاخه‌های اعصاب پشتی آلت تناسلی و شریان‌های عمقی سینوس کاورنوس دیده می‌شود (6). فعالیت NOS در نوروهای آلت تناسلی رت که کورپوس کاورنوس را عصب‌دهی می‌کنند و شبکه عصبی که در لایه آدوانتیس عروق آلت تناسلی وجود دارد، نشان می‌دهد که NO یک میانجی فیزیولوژیکی عملکرد نعوظ (Erection) است. به غیر از اعصاب، eNOS به وفور در آندوتلیوم عروق آلت تناسلی و آندوتلیوم سینوزوئیدهای کورپوس کاورنوس (اجسام غاری) بیان می‌شود (105). یافته‌های مختلف نشان می‌دهد که هر سه ژن eNOS، nNOS و iNOS در سلول‌های عضله صاف سینوس کاورنوس آلت تناسلی مرد بیان می‌شود. تجویز ضد آندروژن فلوتامید (Flutamide) به رت‌های سالم موجب کاهش بیان ژن eNOS و nNOS و کاهش نعوظ می‌شود (114).

Ignarro و همکاران (115) نیز نشان دادند که تحریک الکتریکی نوار سلولی جداشده از کورپوس کاورنوزوم خرگوش، NO را به صورت درون‌زا ترشح می‌کند. براساس این مشاهدات، آنها فرض کردند که نعوظ به واسطه NO و در پاسخ به انتقال‌دهنده عصبی غیر آدرنرژیک غیر کولینرژیک ایجاد می‌شود. علاوه بر این، تزریق مستقیم L-NAME به داخل هسته‌های پاراونتریکولار (مجاور بطنی هیپوتالاموس)، سبب مهار ابومورفین و اکسی توسین القاء کننده نعوظ می‌شود (6).

Buhimschi و همکاران (106) نشان دادند که گردن رحم رت، هر سه ایزوفرم NOS را بیان می‌کند. به علاوه، بیان iNOS در حین زایمان عادی و زودرس در گردن رحم افزایش و در رحم کاهش می‌یابد و nNOS که در طول بارداری در رحم بیان نمی‌شود، در طول زایمان در گردن رحم افزایش می‌یابد. در طی زایمان برخلاف nNOS و iNOS، تغییر معنی‌داری در بیان ژن eNOS دیده نمی‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که فعالیت‌های NOS در رحم و دهانه رحم تنظیم متفاوتی در طی زایمان دارد و ممکن است در بازسازی بافت همبند در طی آماده‌سازی دهانه رحم نقش داشته باشد. ارتباط فیزیولوژیک و بیولوژیک NO در دوران بارداری و زایمان نشان می‌دهد که مهارکننده سنتز NO (L-NAME) باعث طولانی‌شدن مدت‌زمان زایمان و همچنین کاهش بازشدن دهانه رحم می‌شود (111).

در مطالعه‌ای که اثر آدیونکتین را بر میزان ترشح NO در سلول‌های استرومال آندومتر انسانی نرمال و آندومتریوزی در محیط کشت بررسی کردیم، مشخص شد که تجویز آدیونکتین بطور وابسته به دوز و زمان باعث کاهش معنی‌دار میزان ترشح NO از سلول‌های استرومال آندومتر انسان در نمونه‌های آندومتریوزی شد. این احتمال وجود دارد که آدیونکتین بر میزان بیان ایزوفرم‌های مختلف NO سنتز در آندومتر به‌خصوص در سلول‌های استرومال تأثیر گذاشته و با کاهش مقدار NO در سلول‌های استرومایی در محیط کشت سبب مهار پیشرفت آندومتریوز می‌شود (112).

#### نیتریک اکسید در جفت و پره اکلامپسی

هر دو ژن iNOS و eNOS در جفت بیان می‌شوند و بیان eNOS در عروق جنین و جفت به دست آمده از بیماران مبتلا به پره اکلامپسی افزایش می‌یابد (113). از آنجا که عروق جفت در پاتوفیزیولوژی پره اکلامپسی مهم‌ترند، به نظر می‌رسد eNOS در شرایطی مانند پره اکلامپسی اهمیت دارد. در واقع ممکن است افزایش

## نیتریک اکسید در بیضه

NO در آندوتلیوم عروق بیضه نیز مکان یابی شده است. بر این اساس، می توان دریافت که NO می تواند در خونرسانی بیضه مؤثر باشد و در نتیجه بر رسیدن گنادوتروپین به سلول های لیدیگ و همچنین بر جابه جایی آندروژن از بیضه تأثیر می گذارد (104). NO در بیضه، در تنظیم جریان خون، نفوذپذیری سلول و عملکرد انقباضی میوفیبروبلاست ها و تنظیم سنتز استروئید نقش دارد (116). همچنین NO تحرک اسپرم را تنظیم می کند، به طوری که غلظت کم NO باعث افزایش تحرک اسپرم (117) می شود و غلظت متوسط / بالای NO تحرک اسپرم را کاهش می دهد.

در مایع منی افراد مختلف یک همبستگی مثبت بین غلظت NO و درصد بی تحرکی اسپرم مشاهده شده است. تحت شرایط فیزیولوژیکی، NO به مقدار کم تولید و موجب خنثی سازی رادیکال های آزادی می شود که مانع تحرک اسپرم هستند. در مقابل، تولید بیش از حد NO تحت شرایط پاتولوژیک مانند عفونت یا آندومتریوز می تواند باعث سمیت اسپرم و همچنین کاهش تحرک اسپرم از طریق شکل گیری پروکسی نیتريت شود. این امکان وجود دارد که انزال اسپرم به دستگاه تناسلی زن به یک واکنش ایمنی بیانجامد که باعث القاء فعالیت iNOS و تولید مقادیر زیادی از NO- شود که می تواند سمیت اسپرم را القاء کند (118). از این رو، حضور مهارکننده NO درونزا در پلاسما سمنال می تواند یک نقش فیزیولوژیکی در مهار فعالیت NOS و حفظ NO در غلظت های پایین برای جلوگیری از آسیب های سمی به اسپرم و سلول های اطراف و یا برای جلوگیری از تحرک بیش از حد (hypermotility) اسپرم های مرتبط با فرآیند ظرفیت یابی شود (119).

## نیتریک اکسید و ظرفیت یابی اسپرم

نیتریک اکسید باعث شروع ظرفیت یابی اسپرم انسان می شود. غلظت بالای NO بر تحرک اسپرم تأثیر منفی می گذارد، اما غلظت پایین تر NO، کاهشی در تحرک اسپرم ایجاد نمی کند. گرچه حضور آنزیم نیتریک اکسید سنتاز در دستگاه تناسلی زن را مرتبط باشل شدن عضلات صاف دانسته اند، اما ممکن است، نیتریک اکسیدی که در مایعات دستگاه تناسلی زن ترشح می شود در ظرفیت یابی اسپرم نقش داشته باشد (110-113).

## نیتریک اکسید و تنظیم هورمون های جنسی

NO یک تنظیم کننده مهم سنتز گابا ( Acid: Gamma-AminoButyric GABA) است و این امکان وجود دارد که در تنظیم ترشح ضربانی هورمون آزادکننده گنادوتروپین ( GonadotropinReleasing Hormone: GnRH) نقش داشته باشد. ترشح ضربانی نوراپی نفرین از پایانه های نورآدرنژیک باعث انتشار NO می شود که به طور همزمان سنتز هورمون آزاده کننده لوتتین زا (LHRH) و گابا را افزایش می دهد. هنگامی که غلظت گابا به یک حد آستانه برسد، آزادشدن LHRH را مهار می کند (121). اهمیت فیزیولوژیکی این تنظیمات این است که LHRH با تحریک غده هیپوفیز باعث آزادشدن گنادوتروپین شده که همین خود منجر به فعال شدن غدد جنسی برای تولید استروئیدهای جنسی می شود (122).

این احتمال وجود دارد که NO به عنوان یک ترانسمیتر در هیپوتالاموس، هیپوفیز و غدد جنسی عمل کند (123). مطالعات درون تن (in vivo) در رت های نر عقیم شده نشان داد که تزریق L-NMMA باعث قطع پالس LH می شود که این موضوع حاکی از نیاز به NO جهت ترشح ضربانی GnRH است (122). NOS در سلول های هیپوفیز قدامی به عنوان مثال در سلول های ستاره ای - فولیکولی و سلول های گنادوتروپ



مکان یابی شده است. مشابه با LH، افزایش ناگهانی در میزان ترشح پرولاکتین در طی بعدازظهر پرواستروس رخ می دهد. این امکان وجود دارد که NO و یا آزاد شدن ضربانی GnRH ناشی از NO، عامل تنظیم کننده انتشار پرولاکتین باشد (124).

انکوباسیون با مهارکننده های سنتز NOS (L-NMMA) ترشح پرولاکتین را افزایش می دهد، در حالی که درمان با cGMP پرولاکتین را مهار می کند. بر اساس این یافته ها می توان دریافت که NO از طریق مسیر cGMP، آزاد شدن پرولاکتین از هیپوفیز را مهار می کند. جالب توجه این است که دوپامین (مهارکننده انتشار پرولاکتین) در حضور L-NMMA و هموگلوبین بی اثر می شود و این نشان دهنده اثر مهاری NO بر دوپامین نیز می باشد. در مقایسه با پرولاکتین، NO انتشار پایه ای LH را تغییر نمی دهد (6)، اما مسیر ترشح LH القاء شده توسط GnRH را مهار می کند. هم چنین مطالعات نشان می دهند که NO در تنظیم استروئیدوژنز سلول های لوتال گرانولوزا نقش دارد (125).

در سلول های گرانولوزای لوتال کشت شده، درمان با S-Nitroso-n-Acetyl Penicillamin یا به اختصار SNAP (دهنده NO)، باعث کاهش سنتز پایه هر دو هورمون استروژن و پروژسترون می شود و انکوباسیون سلول های مشابه با L-NAME به افزایش قابل توجهی در غلظت استروژن و پروژسترون می انجامد و این یافته ها نشان می دهند که NO اثرات مهاری خود را از طریق یک مسیر مستقل از cGMP اعمال می کند. فعالیت NOS در هر دو سلول لیدیگ و سرتولی در بیضه ثابت شده است. تجویز L-NAME به رت های صحرايي نر، باعث افزایش غلظت تستوسترون می شود و این نشان می دهد که NO نقش اندکی در تنظیم سنتز تستوسترون دارد (126).

### نیتریک اکسید در رفتار جنسی

هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) نه تنها باعث سنتز گنادوتروپین و استروئیدهای گنادی می شود، بلکه

در تنظیم رفتار جفت گیری در مهره داران نیز شرکت می کند. اکسی توسین که القاء کننده رفتار جفت گیری در هر دو جنس نر و ماده است، آزادسازی GnRH را از طریق تولید NO، اعمال می کند و این موضوع نشان می دهد که اثر بر رفتارهای جنسی به واسطه اکسی توسین از طریق NO تنظیم می شود (121). NO هم چنین رفتار جفت گیری در مردان را از طریق تنظیم واسطه های عصبی مرتبط با نعوظ کنترل می کند. به نحوی که مهار سنتز NO از طریق کاهش فعالیت سیستم عصبی سمپاتیک باعث کاهش دفعات انزال منی و کاهش زمان شروع انزال می شود، هم چنین رفتار جنسی بیش از حد و نامناسب در موش های فاقد nNOS نیز مشاهده شده است (127).

نیتریک اکسید و فرآیندهای ترشحي سیستم تناسلي توزیع NOS در سراسر دستگاه تناسلي رت نر بالغ نژاد Sprague-Dawley اثبات و NOS در اعصاب و آندوتلیوم عروق تعیین مکان شده است (104). این نتایج همراه با یافته های قبلی در مورد آلت تناسلي مرد این مفهوم را می رسانند که NO فعالیت عضلات صاف در اندام تناسلي را تنظیم می کند (128).

تعیین موقعیت الیاف عصبی زیر اپیتلیالی حاوی NOS نشان می دهد که NO در فرآیندهای ترشحي نیز درگیر است (129). رنگ پذیری NOS در مجرای دفران به گونه ای است که در قسمت پروگزیمال مجرای دفران، رنگ آمیزی برای NOS به صورت پراکنده و در شبکه عصبی و الیاف عصبی موجود در لایه زیر اپیتلیال و به مقدار کم، در عضلات صاف توزیع شده است. این الگوی رنگ آمیزی به سمت انتهای دیستال این ارگان افزایش یافته و به میزان قابل ملاحظه ای در این مناطق از مجرای انزالی افزایش می یابد. افزایش NOS در دورترین بخش های مجرای دفران با تفاوت های منطقه ای در انقباض مجرای دفران سازگار است که ممکن است با مکانیسم های عصبی مرتبط باشد (129).

رنگ آمیزی و تعیین موقعیت NOS در اپیدیدیم نشان می‌دهد که NO ممکن است در فرآیندهای ترشحی و جذب این اپیتلیوم نقش داشته باشد (130). تصور می‌شود که فعالیت‌های تونیک مانند شلی آلت تناسلی، انقباض گردن مثانه و نیروی محرکه رو به جلوی مایع منی از طریق مجاری سیستم تناسلی دارای تنظیم آدرنژیک است و فاز بیرون آمدن و انزال منی از «فرآیند انزال» در درجه اول توسط کاته کول آمین‌ها یا دیگر مواد آدرنژیک تنظیم می‌شود. با این حال، اثرات آدرنژیک حاکم بر این فرآیند ممکن است توسط NO تنظیم شود. از آنجا که وجود میزان فراوان الیاف عصبی NOS مثبت در بخش انتهایی مجرای دفران و مجرای انزالی به اثبات رسیده است، NO احتمالاً از طریق انتقال دهنده‌های عصبی مهاری، عبور مایع منی را میانجی‌گری می‌کند. هم‌چنین ممکن است با سیستم آدرنژیک و دیگر واسطه‌های عصبی، مانند پپتید وازواکتیو روده، به منظور تسهیل در فرآیندهای باروری هماهنگ باشد (104).

#### نقش نیتریک اکسید در دستگاه گوارش

NO دارای اثر محافظتی بر دستگاه گوارش است و به عنوان واسطه فرآیندهای فیزیولوژیک متعددی، از جمله تنظیم جریان خون مخاط، ترمیم و نگهداری از تمامیت مخاطی و حفظ تون عروقی در دستگاه گوارش عمل می‌کند (7). NO و پروستاگلاندین‌ها درجه‌ای از همکاری را جهت محافظت مخاطی نشان می‌دهند و کاهش عملکرد یکی از آنها می‌تواند منجر به وضعیت جبرانی در دیگری شود. آزمایش‌ها در رت نشان می‌دهند که  $N^G$ -monomethyl-L-arginine (NMMA) که مهارکننده NOS است، موجب افزایش فشار خون سیستمیک وابسته به دوز در مخاط معده می‌شود (131). شواهدی وجود دارد که NO اگر وزن نیز می‌تواند به محافظت از مخاط معده رت از آسیب القاء شده توسط ایندومتاسین کمک کند (7).

انکوباسیون با NO باعث تحریک ترشح موکوس در سلول‌های مخاط معده رت به صورت وابسته به دوز شده و این تحریک مربوط به مسیر cGMP است (132). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که NO با مهار ترشح اسید از سلول‌های جداری معده، دارای نقش محافظتی است (133). سلول‌های غدد معده انسان انکوبه شده با S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) که دهنده NO است، کاهش معنی‌داری در ترشح اسید نسبت به گروه کنترل نشان داده‌اند. از آنجا که ترشح اسید در حضور آنالوگ cGMP منجر به مهار و حضور SNAP و مهارکننده GC سنتاز منجر به کاهش ترشح اسید معده نشد، محققان نتیجه گرفتند که نقش NO در ترشح اسید معده وابسته به cGMP است (7).

اگرچه پروستاگلاندین‌ها و NO برای عملکرد طبیعی دستگاه گوارش مورد نیاز هستند، شواهدی نیز در دست است که زیاده‌ای این ترکیبات ممکن است اثرات زیان‌باری بر دستگاه گوارش داشته باشد. ترشح سیکلو اکسیژناز 2 (Cyclooxygenase 2: COX2)، ایزوآنزیم القایی از COX، در التهاب مخاط دستگاه گوارش تحریک می‌شود. هر چند که COX-2 مشتق شده از پروستاگلاندین و احتمالاً NO مشتق شده از iNOS در ترمیم زخم معده مؤثرند (7، 134)، القاء NOS از مسیر مشابه، ممکن است با شرایط پاتولوژیک همراه باشد. در دستگاه گوارش، iNOS در گاستریت ناشی از عفونت هلیکوباکتریپلوری، بیماری التهابی روده و زخم‌زایی ناشی از دارو فعال می‌شود (135).

در برخی از آزمایشات، NO برون‌زا، آسیب معده‌ای القاء شده توسط ایندومتاسین در موش‌های صحرايي را کاهش و یا محافظت می‌کند. در مقابل، زمانی که ایندومتاسین به موش‌های فاقد ژن iNOS داده می‌شود، کاهشی در میزان آسیب معده در مقایسه با حیوانات نرمال وجود دارد (134). این موضوع نشان می‌دهد که NO مشتق از iNOS در زخم معده ناشی از ایندومتاسین درگیر است. همچنین گزارش‌هایی در

رابطه با سطوح پایین NO وجود دارد که نشان دهنده محافظت معده در برابر آسیب القاء شده توسط داروهای (Nonsteroidal Anti-Inflammatory NSAID Drug) است، در حالی که غلظت های بالاتر NO منجر به آسیب القاء شده توسط NSAIDs می شود (7).

#### منابع نیتریک اکسید در دستگاه گوارش

در دستگاه گوارش انسان منابع آنزیمی، غیر آنزیمی و باکتریایی برای تولید NO وجود دارد (8). در روده، سلول های التهابی، اپیتلیال، آندوتلیال و عصبی می توانند iNOS را بیان کنند. چند مکانیسم تشکیل NO مستقل از NOS نیز وجود دارد. به عنوان مثال، گزانتین اکسیدوردوکناز آنزیمی است که تحت شرایط هیپوکسی می تواند از طریق کاهش نترات ( $\text{NO}_3^-$ ) و نیتريت ( $\text{NO}_2^-$ ) منجر به تولید NO شود. همچنین NO می تواند از طریق نترات رژیم غذایی که در حفره دهان توسط ردوکناز باکتریایی به نیتريت تبدیل می شود، تولید شود (136). تولید NO از واکنش پراکسید هیدروژن با آرژنین، یک مثال دیگر از تولید غیر آنزیمی NO است. در نهایت در روده بزرگ باکتری های بی هوازی با استفاده از نیتريت و نترات به عنوان سوبسترا، NO تولید می کنند (137).

#### نقش نیتریک اکسید در حرکات روده

تحرك دستگاه گوارش مستقیماً توسط نورون های حرکتی تحریکی و مهارى روده که در لایه عضله صاف وجود دارند، کنترل می شود. اتساع روده توسط لقمه غذا رخ می دهد. این اتساع توسط اعصاب آوران روده در آن ناحیه شناسایی می شود. این سلول های عصبی از طریق نورون های حد واسط، تحریک های خود را به بالادست یا پایین دست ارسال می کنند. نورون های حد واسط بالادست، نورون های تحریکی هستند و انقباضات را از طریق نوروترانسمیتر استیل کولین و ماده P القاء می کنند. نورون های حد واسط

پایین دست، نورون های مهارى هستند و از طریق نوروترانسمیتر سوماتواستاتین و GABA عمل می کنند. این اینترنورون های مهارى با استفاده از مواد مخدر درون زاء، پپتید وازواکتیو روده ای (Vasoactive Intestinal Peptide: VIP) و NO، مهار انقباض عضلانی را تنظیم می کنند. حدود 50 درصد از اعصاب در سیستم عصبی روده دارای nNOS هستند. این اعصاب در شبکه عصبی میانتریک واقع شده اند. Nagase و همکاران برای اولین بار نشان دادند که NO مهم ترین نوروترانسمیتر غیر آدرنژیک، غیر کولینژیک مهارى در روده است (137).

مگا کولون سمی در بیماران مبتلا به زخم کولیت تا حدودی ناشی از تولید بیش از حد NO توسط iNOS در عضلات صاف روده است. مهار انتخابی iNOS می تواند یک استراتژی درمانی برای این بیماری باشد. چند اختلال حرکتی، مانند انسداد مزمن کاذب روده و حتی یبوست را نیز می توان به NO نسبت داد (136).

#### نیتریک اکسید و ترشح و جذب روده ای

NO در حفره روده دارای نیمه عمر کمتر از 6 ثانیه است و در حضور اکسیژن و آب به سرعت به نیتريت و نترات تبدیل می شود و در آب، چربی و هوا به میزان زیادی قابل انتشار است و آزادانه از غشاء سلولی عبور کرده و به سلول های هدف مجاور می رسد و مستقیماً با تأثیر بر اپتلیوم و جریان خون و یا به طور غیرمستقیم با تحریک رفلکس عصبی و انتشار و یا فعل و انفعال با دیگر عوامل در حمل و نقل آب در روده درگیر است (138).

NO همچنین می تواند ترشح پلی پپتید روده ای وازواکتیو (VIP) را القاء کند. علاوه بر این، NO باعث افزایش تولید پروستاگلاندین E2 می شود. به غیر از اثرات غیرمستقیم بر مولکول های ترشحي، NO ممکن است اثرات مستقیم ترشحي بر روی باز شدن کانال های کلر اعمال کند و القاء کننده اسهال ایجاد شده از موادی

مانند روغن کرچک، منیزیم سولفات و آنتراکونینون (Anthraquinone) است. ترشح اسید صفراوی به روده کوچک باعث تولید NO می‌شود و این موضوع نشان می‌دهد که NO در اسهال ناشی از نمک صفراوی نیز درگیر است (136). در لومن روده بیماران مبتلا به کولیت کلاژنی یا کولیت لنفوسیتی تولیدکننده اسهال آبکی، سطح بالایی از گاز NO وجود دارد که نشان‌دهنده نقش NO در التهاب ناشی از اسهال است. در بیماران مبتلا به کولیت کلاژنی استعمال موضعی مهارکننده (L-NMMA) NOS ترشح مایعات را کاهش می‌دهد. NO همچنین می‌تواند ترشح مایعات در اسهال ناشی از کلستریدیوم مقاوم و ویای سمی را کاهش دهد (139).

#### نقش نیتریک اکسید در سیستم تنفسی

NO در طیف گسترده‌ای از فرآیندهای بیولوژیکی مانند شل شدن عروق، انتقال پیام عصبی، لخته شدن خون و مکانیسم‌های دفاعی درگیر است. بر اساس این یافته‌ها، استنشاق NO به عنوان شل‌کننده عروق ریوی و گشادکننده برونش در نوزادان با فشار خون بالای ریوی مزمن، در بیماران مبتلا به سندرم زجر تنفسی حاد و در طول عمل جراحی قلب و پیوند عضو به کار گرفته شده است (9). نتایج به دست آمده ظاهراً تاحدودی موفق بوده‌اند. با این حال، عملکردهای بیولوژیکی و توان درمانی که NO در سیستم تنفسی دارد، دقیقاً مشخص نیست (140).

شواهد حاکی از آنند که در بیماری‌های هیپوکسی ریوی، فرآیند انتشار NO در سلول‌های آندوتلیال، مختل می‌شود. به نظر می‌رسد NO استنشاقی، یک گشادکننده عروق ریوی است (141). استنشاق ضربانی NO به صورت ترکیبی با اکسیژن، یک درمان بی‌خطر و مؤثر برای بیماران مبتلا به بیماری مزمن مسدودکننده مجاری ریوی (Pulmonary Obstructive Chronic Disease: COPD) است (142). استنشاق ترکیبی از NO و اکسیژن با یک دستگاه پالس‌دار برای 20 دقیقه در

بیماران مبتلا به فشارخون بالای ریوی مزمن (Pulmonary Hypertension: PH) ناشی از COPD به طرز معنی‌داری باعث شل شدن عروق بزرگ می‌شود (143).

Tsuchiya و همکاران نشان دادند که در سیستم تنفسی، بین NO بازدمی و اکسیژن خون ارتباط وجود دارد و همچنین فشار اکسیژن نقش مهمی در تعیین عملکردهای بیولوژیکی NO بازی می‌کند. بنابراین، کنترل تعادل نسبی غلظت اکسیژن و NO ممکن است برای حفظ عملکرد تنفسی از اهمیت زیادی برخوردار باشد و این نکته باید در هنگام درمان بیماری‌های مختلف تنفسی در نظر گرفته شود (140). سلول‌های اپیتلیال ریوی و آندوتلیال عروقی، اعصاب غیر آدرنژیک، ماست سل‌ها، ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و فیبروبلاست‌ها در ریه به‌عنوان منبع NO بازدمی در نظر گرفته می‌شوند (9).

اخیراً دریافته‌اند که طول عمر و عملکرد NO تحت فشار پایین اکسیژن تا حد زیادی توسط نوتروفیل و سایر سلول‌های یوکاریوتی در شرایط درون تن افزایش می‌یابد (144). از آنجا که غلظت اکسیژن در بیشتر بافت‌ها و سلول‌ها بسیار پایین‌تر از فشار اکسیژن هوا است، افزایش NO توسط فشار اکسیژن پایین، عاملی کلیدی در درک عملکرد بیولوژیکی و اهمیت آن در نظر گرفته می‌شود (145). به دلیل آنکه غلظت اکسیژن همیشه در ریه بالاتر از بافت‌های دیگر است و گاهی اوقات این سیستم در طی فرآیندهای درمانی تقریباً اکسیژن خالص دریافت می‌کند، هنگام ارزیابی عملکرد NO بازدمی، مهار آن توسط غلظت بالای اکسیژن نیز باید در نظر گرفته شود (140). NO بازدمی با افزایش التهاب راه‌های هوایی در بیماران مبتلا به آسم و دیگر بیماری‌های تنفسی مرتبط است (145) و از آنجایی که دود سیگار حاوی مقدار فراوان NO است، می‌تواند تولید NO را در افراد سیگاری تحت تأثیر قرار دهد (146).

گوارش ایفای نقش می کند و این موضوع حاکی از اهمیت این ملکول پیام رسان است و خارج شدن آن از حد تعادل، زمینه ساز بسیاری از اختلالات می شود. با شناخت دقیق مکانیسم های اثربخشی NO می توان راهکارهای درمانی مناسبی برای بسیاری از اختلالات مرتبط به کار گرفت.

### سپاسگزاری

نویسندگان، از دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه بابت حمایت از این طرح تشکر می کنند.

نیتریک اکسید به عنوان یک ملکول تنظیم کننده در عملکرد سیستم های مختلف بدن نقش های اساسی دارد و در طیف گسترده ای از فرآیندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک از جمله سرطان، متاستاز، التهاب، انعقاد، آتروژنز، تجدید ساختار عروقی، انقباضات عضلات صاف، قلبی و اسکلتی، میلین سازی و تخریب میلین، فرآیندهای ایمونولوژیک و ضد میکروبی، تخمک گذاری، انقباضات لوله رحم و انقباض میومتر، لانه-گزینی، زایمان و همچنین تنظیمات هورمونی، نعوظ، رفتارهای جنسی و تنظیم قطر مجاری تنفسی، حفظ تمامیت مخاط و ترمیم آن و تنظیم حرکات سیستم

### References

1. Änggård E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet*. 1994;343(8907):1199-1206.
2. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SW. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *J Pharmacol Sci*. 2015;129(2):83-94.
3. Ying L, Hofseth LJ. An emerging role for endothelial nitric oxide synthase in chronic inflammation and cancer. *Cancer Res*. 2007;67(4):1407-1410.
4. Smith KJ, Lassmann H. The role of nitric oxide in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2002;1(4):232-241.
5. Rosselli M, Imthurn B, Macas E, Keller P, Dubey R. Endogenous nitric oxide modulates endothelin-1 induced contraction of bovine oviduct. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;201(1):143-148.
6. Rosselli M, Keller R, Dubey RK. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum Reprod Update*. 1998;4(1):3-24.
7. Lanos A. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(suppl2):S4
8. Cuzzocrea S, Mazzon E, Calabro G, Dugo L, De Sarro A, Van De Loo Fa, et al. Inducible nitric oxide synthase—knockout mice exhibit resistance to pleurisy and lung injury caused by carrageenan. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162(5):1859-1866.
9. Stojanović R, Todorović Z, Vucković S, Nesić Z, Prostran M. Nitric oxide and lung diseases. *Med Pregl*. 2002;56(suppl1):13-17.
10. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288(5789):373-376.
11. Chen K, Pittman RN, Popel AS. Nitric oxide in the vasculature: where does it come from and where does it go? A quantitative perspective. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(7):1185-1198.

12. Shiva S, Huang Z, Grubina R, Sun J, Ringwood LA, MacArthur PH, et al. Deoxymyoglobin is a nitrite reductase that generates nitric oxide and regulates mitochondrial respiration. *Circ Res*. 2007;100(5):654-661.
13. Li H, Liu X, Cui H, Chen Y-R, Cardounel AJ, Zweier JL. Characterization of the mechanism of cytochrome P450 reductase-cytochrome P450-mediated nitric oxide and nitrosothiol generation from organic nitrates. *J Biol Chem* 2006;281(18):12546-12554.
14. Wink DA, Miranda KM, Espey MG, Pluta RM, Hewett SJ, Colton C, et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxid Redox Signal*. 2001;3(2):203-213.
15. Tang EH, Feletou M, Huang Y, Man RY, Vanhoutte PM. Acetylcholine and sodium nitroprusside cause long-term inhibition of EDCF-mediated contractions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289(6):H2434-H2440.
16. Li Z, Wang Y, Vanhoutte PM. Upregulation of heme oxygenase 1 by hemin impairs endothelium-dependent contractions in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*. 2011;58(5):926-934.
17. Bucci M, Roviezzo F, Cicala C, Sessa WC, Cirino G. Geldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90 (Hsp90) mediated signal transduction has anti-inflammatory effects and interacts with glucocorticoid receptor in vivo. *Br J Pharmacol*. 2000;131(1):13-16.
18. Kleinbongard P, Schulz R, Rassaf T, Lauer T, Dejam A, Jax T, et al. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood*. 2006;107(7):2943-2951.
19. Tsuda K, Kimura K, Nishio I, Masuyama Y. Nitric oxide improves membrane fluidity of erythrocytes in essential hypertension: an electron paramagnetic resonance investigation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;275(3):946-954.
20. Randriamboavonjy V, Fleming I. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in platelets: how is it regulated and what is it doing there? *Pharmacol Rep*. 2005;57:59-65
21. Hofseth LJ, Hussain SP, Wogan GN, Harris CC. Nitric oxide in cancer and chemoprevention. *Free Radic Biol Med*. 2003;34(8):955-968.
22. Connelly L, Jacobs AT, Palacios-Callender M, Moncada S, Hobbs AJ. Macrophage endothelial nitric-oxide synthase autoregulates cellular activation and pro-inflammatory protein expression. *J Biol Chem*. 2003;278(29):26480-26487.
23. Qiu H, Orr FW, Jensen D, Wang HH, McIntosh AR, Hasinoff BB, et al. Arrest of B16 melanoma cells in the mouse pulmonary microcirculation induces endothelial nitric oxide synthase-dependent nitric oxide release that is cytotoxic to the tumor cells. *Am J Pathol*. 2003;162(2):403-412.

24. Xia Y, Krukoff TL. Estrogen induces nitric oxide production via activation of constitutive nitric oxide synthases in human neuroblastoma cells. *Endocrinology*. 2004;145(10):4550-4557.
25. Li C-Q, Wogan GN. Nitric oxide as a modulator of apoptosis. *Cancer lett*. 2005;226(1):1-15.
26. Fukumura D, Kashiwagi S, Jain RK. The role of nitric oxide in tumour progression. *Nature Reviews Cancer*. 2006;6(7):521-534.
27. Wartenberg M, Schallenberg M, Hescheler J, Sauer H. Reactive oxygen species-mediated regulation of eNOS and iNOS expression in multicellular prostate tumor spheroids. *Int J Cancer*. 2003;104(3):274-282.
28. Tong X, Li H. eNOS protects prostate cancer cells from TRAIL-induced apoptosis. *Cancer lett*. 2004;210(1):63-71.
29. Dodd F, Limoges M, Boudreau R, Rowden G, Murphy PR, Too CK. L-arginine inhibits apoptosis via a NO-dependent mechanism in Nb2 lymphoma cells. *J Cell Biochem*. 2000;77(4):624-634.
30. Khazaei MR, Rashidi Z, Chobsaz F, Khazaei M. Apoptosis induction of human endometriotic epithelial and stromal cells by noscapine. *Iran J Basic Med Sci*. 2016;19(9):940-945
31. Jadeski LC, Hum KO, Chakraborty C, Lala PK. Nitric oxide promotes murine mammary tumour growth and metastasis by stimulating tumour cell migration, invasiveness and angiogenesis. *Int J Cancer*. 2000;86(1):30-39.
32. Wang L, Shi GG, Yao JC, Gong W, Wei D, Wu T-T, et al. Expression of endothelial nitric oxide synthase correlates with the angiogenic phenotype of and predicts poor prognosis in human gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2005;8(1):18-28.
33. Orucevic A, Bechberger J, Green AM, Shapiro RA, Billiar TR, Lala PK. Nitric-oxide production by murine mammary adenocarcinoma cells promotes tumor-cell invasiveness. *Int J Cancer*. 1999;81(6):889-896.
34. Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. *Nature immunology*. 2001;2(10):907-916.
35. Suschek CV, Krischel V, Bruch-Gerharz D, Berendji D, Krutmann J, Kröncke K-D, et al. Nitric oxide fully protects against UVA-induced apoptosis in tight correlation with Bcl-2 up-regulation. *J Biol Chem*. 1999;274(10):6130-6137.
36. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med*. 2000;6(12):1399-1402.
37. Xu W, Liu L, Smith GC. Nitric oxide upregulates expression of DNA-PKcs to protect cells from DNA-damaging anti-tumour agents. *Nat Cell Biol*. 2000;2(6):339-345.
38. Hosking H. Nitric oxide and the immune system: a literature review.

- The Plymouth Student Scientist. 2009;2(2):270-278.
39. Namkoong S, Lee S-J, Kim C-K, Kim Y-M, Chung H-T, Lee H, et al. Prostaglandin E2 stimulates angiogenesis by activating the nitric oxide/cGMP pathway in human umbilical vein endothelial cells. *Exp Mol Med.* 2005;37(6):588-600.
  40. Florio T, Morini M, Villa V, Arena S, Corsaro A, Thellung S, et al. Somatostatin inhibits tumor angiogenesis and growth via somatostatin receptor-3-mediated regulation of endothelial nitric oxide synthase and mitogen-activated protein kinase activities. *Endocrinology.* 2003;144(4):1574-1584.
  41. Awolesi MA, Sessa WC, Sumpio BE. Cyclic strain upregulates nitric oxide synthase in cultured bovine aortic endothelial cells. *J Clin Invest.* 1995;96(3):1449-1454
  42. Sessa WC, Pritchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res.* 1994;74(2):349-353.
  43. Palmer RM, Ferrige A, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature.* 1987;327(6122):524-526.
  44. Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromocyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1989;83(5):1774-1777.
  45. Sarkar R, Meinberg EG, Stanley JC, Gordon D, Webb RC. Nitric oxide reversibly inhibits the migration of cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res.* 1996;78(2):225-230.
  46. Von Der Leyen HE, Gibbons GH, Morishita R, Lewis NP, Zhang L, Nakajima M, et al. Gene therapy inhibiting neointimal vascular lesion: in vivo transfer of endothelial cell nitric oxide synthase gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(4):1137-1141.
  47. Ziche M, Morbidelli L, Masini E, Amerini S, Granger H, Maggi C, et al. Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P. *J Clin Invest.* 1994;94(5):2036-2044.
  48. Papapetropoulos A, Desai KM, Rudic RD, Mayer B, Zhang R, Ruiz-Torres MP, et al. Nitric oxide synthase inhibitors attenuate transforming-growth-factor-beta 1-stimulated capillary organization in vitro. *Am J Pathol.* 1997;150(5):1835-1344
  49. Murrell GA, Jang D, Williams RJ. Nitric oxide activates metalloprotease enzymes in articular cartilage. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;206(1):15-21.



50. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron*. 1992;8(1):3-11.
51. Simmons ML, Murphy S. Induction of nitric oxide synthase in glial cells. *Journal of neurochemistry*. 1992;59(3):897-905.
52. Borgerding RA, Murphy S. Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase in Cerebral Endothelial Cells Is Regulated by Cytokine-Activated Astrocytes. *J Neurochem*. 1995;65(3):1342-1347.
53. Kolb H, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide: a pathogenetic factor in autoimmunity. *Immunol Today*. 1992;13(5):157-160.
54. Arnett HA, Hellendall RP, Matsushima GK, Suzuki K, Laubach VE, Sherman P, et al. The protective role of nitric oxide in a neurotoxicant-induced demyelinating model. *J Immunol*. 2002;168(1):427-433.
55. Huang Z, Huang PL, Panahian N, Dalkara T, Fishman MC, Moskowitz MA. Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase. *Science*. 1994;265(5180):1883-1885.
56. Jaroch S, Hölscher P, Rehwinkel H, Sülzle D, Burton G, Hillmann M, et al. Dihydroquinolines as novel n-NOS inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 2002;12(18):2561-2564.
57. Marletta MA. Approaches toward selective inhibition of nitric oxide synthase. *J Med Chem*. 1994;37(13):1899-1907.
58. Mungrue IN, Bredt DS. nNOS at a glance: implications for brain and brawn. *J Cell Sci*. 2004;117(13):2627-2629.
59. Brenman JE, Chao DS, Xia H, Aldape K, Bredt DS. Nitric oxide synthase complexed with dystrophin and absent from skeletal muscle sarcolemma in Duchenne muscular dystrophy. *Cell*. 1995;82(5):743-752.
60. Kobzik L, Reid MB, Bredt DS, Stamler JS. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature*. 1994;372(6506):546-548.
61. Crosbie RH, Barresi R, Campbell KP. Loss of sarcolemma nNOS in sarcoglycan-deficient muscle. *FASEB J*. 2002;16(13):1786-1791.
62. Xu KY, Huso DL, Dawson TM, Bredt DS, Becker LC. Nitric oxide synthase in cardiac sarcoplasmic reticulum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(2):657-662.
63. Sears CE, Bryant SM, Ashley EA, Lygate CA, Rakovic S, Wallis HL, et al. Cardiac neuronal nitric oxide synthase isoform regulates myocardial contraction and calcium handling. *Circ Res*. 2003;92(5):e52-e9.
64. Emery AE. The muscular dystrophies. *The Lancet*. 2002;359(9307):687-695.
65. Boulanger CM, Heymes C, Benessiano J, Geske RS, Lévy BI, Vanhoutte PM. Neuronal Nitric Oxide Synthase Is Expressed in Rat Vascular Smooth Muscle Cells Activation by Angiotensin II in Hypertension. *Circ Res*. 1998;83(12):1271-1278.

66. Bredt DS. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free radical research*. 1999;31(6):577-596.
67. Deckel AW. Nitric oxide and nitric oxide synthase in Huntington's disease. *J Neurosci Res*. 2001;64(2):99-107.
68. Achike FI, Kwan CY. Nitric oxide, human diseases and the herbal products that affect the nitric oxide signalling pathway. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2003;30(9):605-615.
69. Pellacani A, Wiesel P, Razavi S, Vasilj V, Feinberg MW, Chin MT, et al. Down-regulation of high mobility group-I (Y) protein contributes to the inhibition of nitric-oxide synthase 2 by transforming growth factor- $\beta$ 1. *J Biol Chem*. 2001;276(2):1653-1659.
70. Bogdan C, Röllinghoff M, Diefenbach A. The role of nitric oxide in innate immunity. *Immunol Rev*. 2000;173(1):17-26.
71. Schneemann M, Schoeden G. Macrophage biology and immunology: man is not a mouse. *J Leukoc Biol*. 2007;81(3):579.
72. Ibiza S, Serrador J. The role of nitric oxide in the regulation of adaptive immune responses. *Inmunología*. 2008;27(3):103-117.
73. Schonhoff CM, Gaston B, Mannick JB. Nitrosylation of cytochrome c during apoptosis. *J Biol Chem*. 2003;278(20):18265-18270.
74. Aktan F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life sciences*. 2004;75(6):639-653.
75. Musial A, Eissa NT. Inducible nitric-oxide synthase is regulated by the proteasome degradation pathway. *J Biol Chem*. 2001;276(26):24268-24273.
76. Connelly L, Palacios-Callender M, Ameixa C, Moncada S, Hobbs A. Biphasic regulation of NF- $\kappa$ B activity underlies the pro-and anti-inflammatory actions of nitric oxide. *J Immunol*. 2001;166(6):3873-3881.
77. Pérez-Sala D, Cernuda-Morollón E, Díaz-Cazorla M, Rodríguez-Pascual F, Lamas S. Posttranscriptional regulation of human iNOS by the NO/cGMP pathway. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2001;280(3):F466-F473.
78. Suschek CV, Schnorr O, Kolb-Bachofen V. The role of iNOS in chronic inflammatory processes in vivo: is it damage-promoting, protective, or active at all?. *Curr Mol Med*. 2004;4(7):763-775.
79. Beltrán B, Quintero M, García-Zaragoza E, O'Connor E, Esplugues JV, Moncada S. Inhibition of mitochondrial respiration by endogenous nitric oxide: a critical step in Fas signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(13):8892-8887.
80. Cherla RP, Ganju RK. Stromal cell-derived factor 1 $\alpha$ -induced chemotaxis in T cells is mediated by nitric oxide signaling pathways. *J Immunol*. 2001;166(5):3067-3074.
81. Hobbs AJ, Higgs A, Moncada S. Inhibition of nitric oxide synthase as a potential therapeutic target. *Annu Rev*

- Pharmacol Toxicol. 1999;39(1):191-220.
82. Reiling N, Kröncke R, Ulmer AJ, Gerdes J, Flad HD, Hauschildt S. Nitric oxide synthase: expression of the endothelial,  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent isoform in human B and T lymphocytes. *Eur J Immunol.* 1996; 26(3):511-516.
83. Sciorati C, Rovere P, Ferrarini M, Heltai S, Manfredi AA, Clementi E. Autocrine nitric oxide modulates CD95-induced apoptosis in  $\gamma\delta$  T lymphocytes. *J Biol Chem.* 1997;272(37):23211-23215.
84. Ibiza S, Víctor VM, Boscá I, Ortega A, Urzainqui A, O'Connor JE, et al. Endothelial nitric oxide synthase regulates T cell receptor signaling at the immunological synapse. *Immunity.* 2006;24(6):753-765.
85. Nagy G, Koncz A, Perl A. T cell activation-induced mitochondrial hyperpolarization is mediated by  $Ca^{2+}$ -and redox-dependent production of nitric oxide. *J Immunol.* 2003;171(10):5188-5197.
86. Koncz A, Pasztoi M, Mazan M, Fazakas F, Buzas E, Falus A, et al. Nitric oxide mediates T cell cytokine production and signal transduction in histidine decarboxylase knockout mice. *J Immunol.* 2007;179(10):6613-6619.
87. Grisham MB, Granger DN, Lefler DJ. Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease. *Free Radic Biol Med.* 1998;25(4):404-433.
88. Aiello S, Noris M, Piccinini G, Tomasoni S, Casiraghi F, Bonazzola S, et al. Thymic dendritic cells express inducible nitric oxide synthase and generate nitric oxide in response to self-and alloantigens. *J Immunol.* 2000;164(9):4649-4658.
89. Mouliau N, Truffault F, Gaudry-Talarmain YM, Serraf A, Berrih-Aknin S. In vivo and in vitro apoptosis of human thymocytes are associated with nitrotyrosine formation. *Blood.* 2001;97(11):3521-3530.
90. Basini G, Grasselli F. Nitric oxide in follicle development and oocyte competence. *Reproduction.* 2015;150(1):R1-R9.
91. Goud PT, Goud AP, Najafi T, Gonik B, Diamond MP, Saed GM, et al. Direct real-time measurement of intra-oocyte nitric oxide concentration in vivo. *PloS one.* 2014;9(6):e98720.
92. Bu S, Xia G, Tao Y, Lei L, Zhou B. Dual effects of nitric oxide on meiotic maturation of mouse cumulus cell-enclosed oocytes in vitro. *Mol Cell Endocrinol.* 2003;207(1):21-30.
93. Tripathi A, Kumar K, Chaube SK. Meiotic cell cycle arrest in mammalian oocytes. *J Cell Physiol.* 2010;223(3):592-600.
94. Abbasi M, Akbari M, Amidi F, Kashani IR, Mahmoudi R, Sobhani A, et al. Nitric oxide acts through different signaling pathways in maturation of

- cumulus cell-enclosed mouse oocytes. *DARU*. 2015;17(1):48-52.
95. Shukovski L, Tsafirri A. The involvement of nitric oxide in the ovulatory process in the rat. *Endocrinology*. 1994;135(5):2287-2290.
  96. Bonello N, McKie K, Jasper M, Andrew L, Ross N, Braybon E, et al. Inhibition of nitric oxide: effects on interleukin-1 beta-enhanced ovulation rate, steroid hormones, and ovarian leukocyte distribution at ovulation in the rat. *Biol Reprod*. 1996;54(2):436-445.
  97. Sugino N, Takiguchi S, Ono M, Tamura H, Shimamura K, Nakamura Y, et al. Ovary and ovulation: Nitric oxide concentrations in the follicular fluid and apoptosis of granulosa cells in human follicles. *Hum Reprod*. 1996;11(11):2484-2487.
  98. Anteby EY, Hurwitz A, Korach O, Revel A, Simon A, Finci-Yeheskel Z, et al. Ovary and Ovulation: Human follicular nitric oxide pathway: relationship to follicular size, oestradiol concentrations and ovarian blood flow. *Hum Reprod*. 1996;11(9):1947-1951.
  99. Ekerhovd E, Brännström M, Alexandersson M, Norström A. Evidence for nitric oxide mediation of contractile activity in isolated strips of the human Fallopian tube. *Hum Reprod*. 1997;12(2):301-305.
  100. Bryant C, Tomlinson A, Mitchell J, Thiernemann C, Willoughby D. Nitric oxide synthase in the rat fallopian tube is regulated during the oestrous cycle. *Journal of endocrinology*. 1995;146(1):149-157.
  101. Rosselli M, Dubey R, Rosselli M, Macas E, Fink D, Lauper U, et al. Identification of nitric oxide synthase in human and bovine oviduct. *Mol Hum Reprod*. 1996;2(8):607-612.
  102. Dubey RK, Jackson EK, Rupperecht HD, Sterzel RB. Factors controlling growth and matrix production and matrix production in vascular smooth muscle and glomerular mesangial cell. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1997;6(1):88-105.
  103. Azuma H, Obayashi S, Hamasaki H, Koyama T, Aso T. Role of endothelium in the human uterine arteries during normal menstrual cycle. *Br J Pharmacol*. 1995;114(4):902-908.
  104. Burnett AL, Ricker DD, Chamness SL, Maguire MP, Crone JK, Bredt DS, et al. Localization of nitric oxide synthase in the reproductive organs of the male rat. *Biol Reprod*. 1995;52(1):1-7.
  105. Gangula P, Dong Y-L, Yallampalli C. Rat myometrial smooth muscle cells express endothelial nitric oxide synthase. *Hum Reprod*. 1997;12(3):561-568.
  106. Buhimschi I, Ali M, Jain V, Chwalisz K, Garfield RE. Differential regulation of nitric oxide in the rat uterus and cervix during pregnancy and labour. *Hum Reprod*. 1996;11(8):1755-1766.
  107. Natuzzi E, Ursell P, Harrison M, Buscher C, Riemer R. Nitric oxide

- synthase activity in the pregnant uterus decreases at parturition. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;194(1):1-8.
108. Bansal RK, Goldsmith PC, He Y, Zaloudek CJ, Ecker JL, Riemer RK. A decline in myometrial nitric oxide synthase expression is associated with labor and delivery. *J Clin Invest.* 1997;99(10):2502-2508
109. Dong Y, Yallampalli C. Interaction between nitric oxide and prostaglandin E2 pathways in pregnant rat uteri. *Am J Physiol.* 1996;270(3):E471-E6.
110. Khazaei M, Roshankhah S, Ghorbani R, Chobsaz F. Sildenafil effect on nitric oxide secretion by normal human endometrial epithelial cells cultured *In vitro.* *Int J Fertil Steril.* 2011; 5(3): 142-147.
111. Grozdanovic Z, Mayer B, Baumgarten HG, Brüning G. Nitric oxide synthase-containing nerve fibers and neurons in the genital tract of the female mouse. *Cell Tissue Res.* 1994;275(2):355-360.
112. Bohlouli S, Khazaei M, Rabzia A, Khazaei MR, Sadeghi E. Adiponectin effect on nitric oxide secretion by normal and endometriotic human endometrial stromal cells: *in vitro* study. *Int J Morphol.* 2015; 33(1):337-341.
113. Myatt L, Brockman DE, Eis AL, Pollock JS. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the human placenta. *Placenta.* 1993;14(5):487-495.
114. Xie Y, Garban H, Ng C, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Effect of long-term passive smoking on erectile function and penile nitric oxide synthase in the rat. *J Urol.* 1997;157(3):1121-1126.
115. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84(24):9265-9269.
116. Adams ML, Meyer ER, Sewing BN, Cicero TJ. Effects of nitric oxide-related agents on rat testicular function. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994;269(1):230-237.
117. Hellstrom WJ, Bell M, Wang R, Sikka SC. Effect of sodium nitroprusside on sperm motility, viability, and lipid peroxidation. *Fertil Steril.* 1994;61(6):1117-1122.
118. Rosselli M, Dubey RK, Imthurn B, Macas E, Keller PJ. Effects of nitric oxide on human spermatozoa: evidence that nitric oxide decreases sperm motility and induces sperm toxicity. *Hum Reprod.* 1995;10(7):1786-1790.
119. Szabó C, Zingarelli B, Salzman AL. Role of poly-ADP ribosyltransferase activation in the vascular contractile and energetic failure elicited by exogenous and endogenous nitric oxide and peroxynitrite. *Circ Res.* 1996;78(6):1051-1063.
120. Zini A, Lamirande E, Gagnon C. Low levels of nitric oxide promote human

- sperm capacitation in vitro. *J Androl.* 1995;16(5):424-431.
121. McCann S, Kimura M, Karanth S, Yu W, Mastronardi C, Rettori V. The mechanism of action of cytokines to control the release of hypothalamic and pituitary hormones in infection. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;917(1):4-18.
122. Seilicovich A, Lasaga M, Befumo M, Duvilanski BH, del Carmen Diaz M, Rettori V, et al. Nitric oxide inhibits the release of norepinephrine and dopamine from the medial basal hypothalamus of the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(24):11299-11302.
123. Vincent SR. Nitric oxide neurons and neurotransmission. *Prog Neurobiol.* 2010;90(2):246-255.
124. Ceccatelli S, Hulting A-L, Zhang X, Gustafsson L, Villar M, Hökfelt T. Nitric oxide synthase in the rat anterior pituitary gland and the role of nitric oxide in regulation of luteinizing hormone secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(23):11292-11296.
125. Van Voorhis BJ, Dunn MS, Snyder GD, Weiner CP. Nitric oxide: an autocrine regulator of human granulosa-luteal cell steroidogenesis. *Endocrinology.* 1994;135(5):1799-1806.
126. Davidoff M, Middendorff R, Mayer B, Koesling D, Holstein A. Nitric oxide/cGMP pathway components in the Leydig cells of the human testis. *Cell Tissue Res.* 1996;287(1):161-170.
127. Kang JH, Wiggs JL, Rosner BA, Hankinson SE, Abdrabou W, Fan BJ, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene variants and primary open-angle glaucoma: interactions with sex and postmenopausal hormone use. *Arch Ophthalmol.* 2011;129(6):773-780
128. Burnett AL, Lowenstein CJ, Brecht DS, Chang TS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science.* 1992;257(5068):401-403.
129. Properzi G, Cordeschi G, Francavilla S. Postnatal development and distribution of peptide-containing nerves in the genital system of the male rat Hermol R. Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions and their regulation. *The Physiology of Reproduction.* 1988.
130. Kolasa A, Marchlewicz M, Kurzawa R, Głabowski W, Trybek G, Wenda-Różewicka L, et al. The expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the testis and epididymis of rats with a dihydrotestosterone (DHT) deficiency. *Cellular & molecular biology letters.* 2009;14(3):511.
131. Shah V, Lyford G, Gores G, Farrugia G. Nitric oxide in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology.* 2004;126(3):903-913.
132. Brown J, Keates A, Hanson P, Whittle B. Nitric oxide generators and cGMP stimulate mucus secretion by rat gastric mucosal cells. *Am J Physiol.* 1993;265(3):G418-G22.

133. Kato S, Kitamura M, Korolkiewicz RP, Takeuchi K. Role of nitric oxide in regulation of gastric acid secretion in rats: effects of NO donors and NO synthase inhibitor. *Br J Pharmacol.* 1998;123(5):839-846.
134. Souza M, Lemos HP, Oliveira R, Cunha F. Gastric damage and granulocyte infiltration induced by indomethacin in tumour necrosis factor receptor 1 (TNF-R1) or inducible nitric oxide synthase (iNOS) deficient mice. *Gut.* 2004;53(6):791-796.
135. Martin M, Motilva V. New issues about nitric oxide and its effects on the gastrointestinal tract. *Curr Pharm Des.* 2001;7(10):881-908.
136. Dijkstra G, van Goor H, Jansen P, Moshage H. Targeting nitric oxide in the gastrointestinal tract. *Curr Opin Investig Drugs.* 2004;5(5):529-536.
137. Nagase S, Takemura K, Ueda A, Hirayama A, Aoyagi K, Kondoh M, et al. A novel nonenzymatic pathway for the generation of nitric oxide by the reaction of hydrogen peroxide and D- or L-arginine. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;233(1):150-153.
138. Waldman S, Murad F. Cyclic GMP synthesis and function. *Pharmacol Rev.* 1987;39(3):163-196.
139. Beubler E, Schirgi-Degen A. Nitric oxide counteracts 5-hydroxytryptamine-and cholera toxin-induced fluid secretion and enhances the effect of oral rehydration solution. *Eur J Pharmacol.* 1997;326(2):223-228.
140. Tsuchiya M, Tokai H, Takehara Y, Haraguchi Y, Asada A, Utsumi K, et al. Interrelation between oxygen tension and nitric oxide in the respiratory system. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(4):1257-1261.
141. Debley JS, Stamey DC, Cochrane ES, Gama KL, Redding GJ. Exhaled nitric oxide, lung function, and exacerbations in wheezy infants and toddlers. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(6):1228-1234. e13.
142. Brindicci C, Ito K, Resta O, Pride N, Barnes P, Kharitonov S. Exhaled nitric oxide from lung periphery is increased in COPD. *Eur Respir J.* 2005;26(1):52-59.
143. Hajian B, De Backer J, Vos W, Van Holsbeke C, Ferreira F, Quinn DA, et al. Pulmonary vascular effects of pulsed inhaled nitric oxide in COPD patients with pulmonary hypertension. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2016;11:1533-1541
144. Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers Arch.* 2010;459(6):923-939.
145. Montezano AC, Touyz RM. Reactive oxygen species and endothelial function—role of nitric oxide synthase uncoupling and NOx family nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2012; 110(1):87-94.
146. Toda N, Toda H. Nitric oxide-mediated blood flow regulation as affected by smoking and nicotine. *Eur J Pharmacol.* 2010;649(1):1-13.