

|| ۲۲ ||



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی و علوم دارویی
مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

بررسی فعالیت آنزیم گاما گلوتامیل ترانسفراز و میزان نیتریک اکساید
به عنوان مارکرهای استرس اکسیداتیو و نیتروزاتیو در شاغلین
کارخانه سیمان

توسط:

رضا اصغری

به راهنمایی:

دکتر شیرین پور نور محمدی

دکتر محمود رضا حیدری

دکتر احمد غلامحسینیان

۱۳۸۸ / ۳ / ۱۷

شعبه دارک

شماره پایان نامه: ۵۱۹

بهمن ماه ۱۳۸۷

۱۱۳۳۰۱

بار الهی

بر آستان شکوه و قدرت پیشانی بندگی به خاک می نهم؛ با تو می گویم سبکبار و
آسوده با تو می گویم که با دوست گفتن شرط وفاست و وحشت از جان راندن نشان
صفاست آن چه را یارا ندارم به دیگران چون راز بگویم بر آستان امن توبه آواز

می گویم.

پس مرا آن تمنا کن که از تو فقط تو را بخواهم بس

تقدیم به بهترین های زندگی

پدر و مادر عزیزم

مایه استواری قامتم، آنان که قبل از هر قدم من قدم برداشتند تا سالم به مقصد برسم.
آنان که تپش مهرشان تنها نوای قلبم است. آنان که پشتم به وجود مهرشان گرم
است و هیچ برای جبران زحماتشان ندارم. مادری که دریای محبتش را کرانه نیست
و پدری که هیچگاه محبتش را پاسخ نگفتم.

هزاران بوسه بر دستان پرمهرشان

همسرم و خانواده محترم

الهی عشق زندگی، او که وجودم را با جان محبتش لبریز ساخت تقدیم به تک گل
زیبای باغ من الهام که طراوت را از او آموختم و صداقت را با او زمزمه کردم طعم
ماندگار عشق را به من چشاندید و نگاه گرمش همواره شکوه زندگی ام بوده است.

هزاران بوسه بر چشمان پرمهرش

و با تشکر صمیمانه از اساتید گرامتقدم

سرکار خانم شیرین پور نور محمدی

جناب آقای دکتر محمدرضا حیدری

جناب آقای دکتر احمد غلامحسینیان

و با سپاس فراوان از:

ریاست محترم دانشکده جناب آقای دکتر پرداختی

و کلیه اساتید دانشکده داروسازی

و با تشکر از دوستان عزیزم؛ حبیب شمس الدینی، علی شاکری، امید رنجبران و...

مقدمه: رادیکال های آزاد گونه های شیمیایی بسیار فعالی هستند که در شرایط طبیعی طی فرآیندهای سلولی یا از منابع خارجی تولید می شوند. استرس اکسیداتیو و استرس نیتروژاتیو عمدتاً در انسان در نتیجه کاهش آنتی اکسیدان های بدن یا افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن دار و یا افزایش تولید گونه های نیتروژن دار به وجود می آید که منجر به پراکسیداسیون لیپیدی می شود. اندازه گیری فعالیت گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) و سطح سرمی ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) بخشی از شاخص های موثر در مطالعه اثرات رادیکال های آزاد اکسیژن و نیتروژن در بدن می باشد.

در ایران گزارشی در مورد استرس اکسیداتیو و نیتروژاتیو در کارگران کارخانه سیمان گزارش نشده است. لذا برای یافتن پاسخ این سوال که «آیا تماس مزمن با آلاینده ها در کارگران می تواند باعث القا استرس نیتروژاتیو و اکسیداتیو شود؟» پژوهش حاضر انجام گردید.

روش کار: به این منظور ۶۰ کارگر کارخانه سیمان (گروه مورد) و ۳۵ نفر کارگر کارخانه شیر (گروه شاهد) انتخاب شدند. پس از نمونه گیری خون و جدا کردن سرم، TAC به روش Ferric Reducing Anti oxidant Potential (FRAP) با معرف ۲،۴،۶-Tripyridil-thiazine، TPTZ و جذب در طول موج ۵۹۳nm اندازه گیری شد. علاوه بر این سطح سرمی GGT با استفاده از کیت و نیز سطح سرمی رادیکال نیتریک اکساید (NO) با استفاده از روش Griess اندازه گیری گردید.

نتایج: براساس نتایج به دست آمده سطح سرمی GGT در کارگران کارخانه سیمان به عنوان گروه تست در مقایسه با کارگران کارخانه شیر به طور معنی داری بالاتر بود ($P=0.05$). سطح سرمی NO در کارگران کارخانه سیمان به عنوان گروه تست در مقایسه با کارگران کارخانه شیر تفاوت معنی داری نداشت ($P>0.05$). ولی سطح TAC سرم کارگران کارخانه سیمان به طور معنی داری پایین تر از کارگران کارخانه شیر بود ($P=0.036$).

بحث: با توجه به نتایج آزمایشات دوره ای در کارخانه سیمان، کارگران از سلامت کافی برخوردار هستند. یافته های این بررسی و مطالعات قبلی که در کارخانه سیمان کرمان در سال ۱۳۸۷ انجام گرفته

بود نشان داد که برخی از فاکتورهای دخیل در استرس اکسیداتیو کارگران کارخانه سیمان نسبت به کارگران کارخانه شیر تغییرات معنی داری داشتند. گرچه ممکن است که بعضی از این تغییرات ارزش کلینیکی نداشته باشد ولی برای پیشگیری از دخالت رادیکالهای آزاد در پاتوفیزیولوژی بیماریهای مزمن پیشنهاد می شود که از سیستم های حفاظتی محیطی و یا فردی جهت کاهش احتمال تماس با آلاینده ها در کارخانه سیمان استفاده شود.

واژه های کلیدی: غبار سیمان، نیتریک اکساید، گاماگلوتامیل ترانسفراز، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام

پلاسما

Introduction: Free radicals are very active chemical species which are naturally produced in the cells or external sources. Principally, oxidative and nitrosative stress in human can result from diminished body antioxidants or increased production of Reactive Oxygen Species (ROS) or increased production Reactive of Nitrogen Species (RNS) which leads to lipid peroxidation. Measurement of Gamma Glutamyl Transferase activity (GGT) and serum level of Total Antioxidant Capacity (TAC) are effective markers to study oxygen and nitrogen free radicals effects in the body.

There is no study available about oxidative and nitrosative stress, on the workers of cement-formulating factories in Iran. Therefore the present study has been done in order to realize whether the chronic exposure to pollutants could induce oxidative and nitrosative stress on workers.

Methods: 60 workers were chosen from cement factory (test group) and 35 workers from milk factory (control group). After taking blood samples and removing the serum, Total Antioxidant Capacity was measured by Ferric Reducing Anti oxidant Potential (FRAP) method by using 2,4,6-Tripyridil-thiazine (TPTZ) at 593nm wave length absorbance, Beside that serum level of GGT was measured by using its kit, and serum level of nitric oxide radical (NO) was measured by Griess method.

Result: The results show that the serum level of GGT in cement factory workers as test group was significantly higher than milk factory workers ($p= 0.05$), while serum level of NO in cement factory workers as test group didn't show a significant difference in

comparison with milk factory workers ($p>0.05$), but serum level of TAC in cement factory workers was significantly lower than milk factory workers ($P=0.036$).

Conclusion: According to the periodical tests results, cement factory workers were healthy enough. The results of this survey and previous studies that had been done in kerman cement factory in 1387, show that some effective factors on oxidative stress had significant difference, between workers of cement and milk factories. Although some of these difference may not have any clinical value, but they are valuable for prevention of free radical interference in chronic pathophysiological diseases. It is recommended that the workers should use environmental and individual protection system to reduce the probability of exposure to pollutant in cement factory.

Key words: Cement dust, nitric oxide, gamma glutamyl transferase, total antioxidant capacity.

A	Adenine
BUN	Blood Urea Nitrogen
C	Cytosine
CBC	Cell blood counter
cGMP	Cyclic Guanosin mono phosphate
Chol	Cholesterol
Cr	Creatinine
DNA	Deoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylenediamine tetra acetic acid
EDRF	Endothelial delivery relaxation factor
FBS	Fast blood suger
FRAP	Ferric reducing anti oxidant potential
G	Guanosine
GGT	Gamma glutamyl transferase
GSH	Glutation
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematocrit
HPLC	High-performance liquide chromatography
IR	Ionizing radiation
LPS	Lipo poly saccharide
MCH	Mean corpuscular hemoglobin
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration
MCV	Mean corpuscular volume
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide
NO	Nitric oxide
NED	N-naphthylen diamine dihydro chloride
HdG	Hydroxyl deoxy guanosine
RBC	Red Blood Cell
ROS	Reactive oxygen species
RNS	Reative nitrogen species
RPM	Rate per minute
TAC	Total antioxidant capacity
TG	Triglycyride
WBC	White Blood Cell

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
I	خلاصه فارسی پایان نامه
III	خلاصه انگلیسی پایان نامه
V	جدول اختصارات
VI	فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه

۲	۱-۱ سیمان، ساختار و ترکیب شیمیایی آن
۲	۲-۱ گرد و غبار سیمان
۳	۳-۱ رادیکال آزاد
۵	۴-۱ زنجیره تولید رادیکال های آزاد در بدن
۵	۵-۱ نیتریک اکساید
۶	۱-۵-۱ عملکردهای زیستی نیتریک اکساید
۹	۲-۵-۱ اثرات نیتریک اکساید و رادیکال پراکسی نیتریک بر ماکرومولکول های بدن
۹	۱-۲-۵-۱ اثر بر DNA

۹.....	۱-۵-۲ اثر بر لیپیدها
۱۱.....	۱-۵-۲-۳ اثر بر پروتئین ها
۱۱.....	۱-۶ روش های سنجش میزان رادیکال های آزاد
۱۲.....	۱-۷ سیستم دفاع آنتی اکسیدانی
۱۳.....	۱-۷-۱ آنتی اکسیدان های آندوژن
۱۳.....	۱-۷-۱-۱ آنزیم سوپراکسید دیسموتاز
۱۳.....	۱-۷-۱-۲ آنزیم کاتالاز
۱۳.....	۱-۷-۱-۳ آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز
۱۴.....	۱-۸ گلوتاتیون

فصل دوم: مواد، دستگاه و روش ها

۱۹.....	۲-۱ مواد
۱۹.....	۲-۲ دستگاه ها و تجهیزات
۲۰.....	۲-۳ روش کار
۲۰.....	۲-۳-۱ جمع آوری اطلاعات دموگرافیک
۲۰.....	۲-۳-۲ جمع آوری نمونه خون
۲۱.....	۲-۳-۳ انجام تست های بیوشیمیایی

۲۱.....	۱-۳-۳-۲ روش اندازه گیری TAC
۲۲.....	۲-۳-۳-۲ روش اندازه گیری GGT
۲۲.....	۱-۲-۳-۳-۲ اساس آزمایش
۲۲.....	۲-۲-۳-۳-۲ نمونه مورد آزمایش
۲۲.....	۳-۲-۳-۳-۲ معرفه ها
۲۲.....	۴-۲-۳-۳-۲ روش کار
۲۳.....	۳-۳-۳-۲ روش اندازه گیری نیتریک اکساید
۲۶.....	۴-۲ محاسبات و آنالیزهای آماری

فصل سوم: نتایج

۲۸.....	۱-۳ نتایج خصوصیات دموگرافیک
---------	-----------------------------

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۳۵.....	۱-۴ بحث و نتیجه گیری
---------	----------------------

فصل پنجم: منابع

۴۰.....	منابع
---------	-------

۱-۱- سیمان، ساختار و ترکیب شیمیایی آن

کلمه ی سیمان از یک لغت لاتین به نام «سی منت» (Cement) گرفته شده است و ماده ای است که دارای خاصیت چسبانندگی مواد به یکدیگر است و در حقیقت، واسطه چسباندن است (۱). اساساً سیمان با آسیاب نمودن مواد خام از قبیل سنگ و آهک و آلومینا و سیلیسی که به صورت خاک رس و یا سنگ های رسی وجود دارد و مخلوط نمودن آنها با نسبت های معین و با حرارت دادن در کوره های دوار تا حدود ۱۴۰۰ درجه سانتی گراد بدست می آید. در این مرحله، مواد در کوره تبدیل به گلوله های تقریباً سیاه رنگی می شود که کلینکر نامیده می شود (۱،۲).

کلینکر پس از سرد شدن، با مقداری سنگ گچ به منظور تنظیم گیرش، مخلوط و آسیاب شده و پودر خاکستری رنگی حاصل می شود که همان سیمان پرتلند است (۳).

معمولاً چهار ترکیب عمده به عنوان عوامل اصلی تشکیل دهنده سیمان در نظر گرفته می شوند که عبارتند از:

* تری کلسیم سیلیکات یا آلیت	$(3CaO.SiO_2)$
* دی کلسیم سیلیکات یا بلیت	$(2CaO.SiO_2)$
* تری کلسیم آلومینات	$(3CaO.Al_2O_3)$
* تتراکلسیم آلومینوفریت	$(4CaO.Al_2O_3.Fe_2O_3)$

۱-۲- گرد و غبار سیمان

به گزارش آزمایشگاه کنترل کارخانه سیمان، در کارخانه سیمان کرمان کارگران در تماس مزمن با غبار آهک می باشند که این غبار شامل SiO_2 ٪۱۵ و Al_2O_3 ٪۵ و Fe_2O_3 ٪۲ و $CaCO_3$ ٪۷۵ می باشد.

عوارض شغلی ناشی از تماس با گرد و غبار سیمان متعدد است و اعم آن ها عبارتند از: درماتیت آلرژیک، رینیت و فارنژیت و اختلالات تنفسی. گرد و غبار سیمان در صورت عاری بودن از اشکال کریستالیزه سیلیس، ذاتاً به عنوان گرد و غباری مزاحم، طبقه بندی می شود. با این حال، وجود

ناخالصی سیلیس در سیمان از یک طرف و بالا بودن غلظت گرد و غبار این ماده به گونه ای است که به نظر کارشناسان سازمان بین المللی کار (ILO)، سیلیکوزیس و پنوموکونیوزی که به پنوموکونیوز ناشی از استنشاق مخلوطی از گرد و غبارهای گوناگون موسوم است، به ترتیب از مهمترین مخاطرات شغلی کارگران صنایع سیمان به شمار می آیند (۵، ۴).

مطالعات مختلف نشان دهنده این مطلب است که تماس مزمن با آلومینیوم (مثل Al_2O_3) باعث افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی در بافت های بدن می گردد که در نتیجه افزایش رادیکال های آزاد در بدن است و اثرات نورو توکسیک و سمیت کلیوی و آنمی ناشی از تماس با آلومینیوم را به آسیب اکسیداتیو بافت های مربوطه نسبت داده اند (۶). مطالعات زیادی نشان دهنده این مطلب است که SiO_2 احتمالاً یکی از بارزترین عوامل تولید فیروز ریوی می باشد. تعداد زیادی از مطالعات نشان می دهند ذرات SiO_2 پتانسیل تحریک فاگوسیت ها برای رها شدن اکسیدان ها را دارند که فاکتور مهمی در التهاب ریوی به دنبال تغییر فیروتیک است (۷). تماس با SiO_2 باعث ملتهب شدن آئولوها می شود که ناشی از آزاد شدن اکسیدان ها می باشد و گونه های فعال اکسیژن شامل رادیکال هیدروکسیل، آنیون سوپراکسید، رادیکال نیتریک اکساید، هیدروژن پراکسید و اکسیژن تک و نه تنها در اجزا سلولی تولید می شود بلکه بوسیله سلول های فاگوسیتیک که سعی می کنند ذرات سیلیکا (Silica) را هضم کنند هم تولید می شود. استرس اکسیداتیو ناشی از SiO_2 باعث افزایش بیان ژن آنزیم های آنتی اکسیدانی می شود (۸). سیلیکا می تواند در پاسخ به رادیکال های آزاد اکسیژن دار و نیتروژن دار باعث شروع آپوپتوزیس شود (۹، ۱۰).

۱-۳ رادیکال آزاد

اتم از یک هسته و یک یا چند الکترون تشکیل شده است. هسته اتم دارای تعدادی پروتون و نوترون می باشد که الکترون ها نیز در اوربیتال های اتمی قرار گرفته اند. مولکول از اتصال اتم ها و تشکیل اوربیتال های مولکولی ساخته می شود. هر یک از اوربیتال های مولکولی به وسیله یک جفت الکترون

با اسپین مخالف پر می شود. به مولکولی که حاوی یک الکترون جفت نشده باشد «رادیکال آزاد» می گویند. این الکترون منفرد برای جفت شدن به الکترون دیگری نیاز دارد و به همین دلیل از نظر شیمیایی بسیار فعال می باشد. حمله رادیکال آزاد به مولکول ها برای به دست آوردن الکترون تا به حالت جفت شده در آید به طور مداوم انجام می شود. و زنجیره رادیکالی را به وجود می آورد. این زنجیره رادیکالی در حضور آنتی اکسیدان ها مانند ویتامین E و غیره قطع می شود (۱۱). گونه های فعال مهم در سیستم های بیولوژیکی در جدول (۱-۱) آورده شده است (۱۲).

جدول (۱-۱) گونه های فعال مهم در سیستم های بیولوژیکی

نحوه تشکیل	فرمول شیمیایی	رادیکال آزاد
احیا تک الکترونی مولکول اکسیژن	$O_2^{\bullet -}$	رادیکال سوپراکسید
احیا تک الکترونی H_2O_2 و سه الکترونی مولکولی اکسیژن	HO^{\bullet}	رادیکال هیدروکسیل
پروتوناسیون رادیکال سوپراکسید	HOO^{\bullet}	رادیکال هیدروپراکسیل
احیا دو الکترونی O_2 و سپس پروتوناسیون	H_2O_2	هیدروژن پر اکسید
احیا تک الکترونی نیتريت	NO^{\bullet}	مونوکسید نیتروژن
واکنش NO با $O_2^{\bullet -}$	$ONOO^{\bullet}$	پراکسی نیتريت
احیا تک الکترونی هیدرو پراکسید	RO^{\bullet}	رادیکال آلكوكسى
اکسایش تک الکترونی هیدرو پراکسید	ROO^{\bullet}	رادیکال پراکسید
اکسیداسیون ترکیبات غیر اشباع	$ROOH$	هیدرو پراکسید
هیدرولیز کلرین مولکولی	$HClO$	اسید هیپوکلرو

۱-۴ زنجیره تولید رادیکال های آزاد در بدن

در سیستم های اکسیداسیون و احیاء بیولوژیکی ابتدا اتم هیدروژن از سوبسترا (Substrate) حذف می شود و از طریق یک یا چند واکنش اکسیداسیون-احیاء به مولکول پذیرنده هیدروژن منتقل می گردد. در صورتیکه فرآیند مورد نظر تنفس سلولی باشد الکترون ها به صورت اتم های هیدروژن از طریق کمپلکس های زنجیره تنفسی به مولکول اکسیژن انتقال می یابند. در این مسیر اکسیژن بالاترین پتانسیل رودکس (Redox) را دارد و به عنوان آخرین پذیرنده هیدروژن به انتقال الکترون پایان می دهد (۱۳). اکسیژن الکترون های زوج نشده را به راحتی می پذیرد و گونه های نیمه کاهیده ای به نام گونه های فعال اکسیژن دار (ROS) را تولید می کند. سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) که نمونه مهمی از این ترکیبات است به میزان قابل توجهی در زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی و میکروزومی تولید می شود (۱۴). طی عبور الکترون از کمپلکس های چهارگانه موجود در میتوکندری این امکان وجود دارد که الکترونها از زنجیره تنفسی خارج شوند و با اکسیژن واکنش داده و رادیکال سوپراکسید تولید نمایند. تولید سوپراکسید میتوکندریایی علت اصلی آسیب اکسیداتیو سلولی است که منجر به پیری و بروز بیماری های دژنراتیو می گردد (۱۵).

۱-۵ نیتریک اکسید

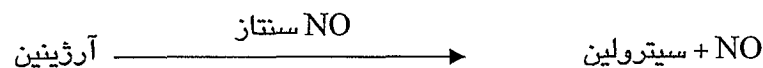
گونه فعال دیگری که در دو دهه اخیر مورد مطالعه قرار گرفته است نیتریک اکسید (NO) است این ترکیب نقش مهمی در متابولیسم طبیعی سلول، تنظیم بیان ژن و تعیین فنوتیپ سلولی دارد (۱۶). همچنین NO که از آرژینین ساخته می شود یک مولکول انتقال دهنده پیام بین سلولی به شمار میرود و علاوه بر این به عنوان یک نوروترانسمیتر، شل کننده عضلات صاف و متسع کننده عروق عمل می کند (۱۷، ۱۸). نیتریک اکساید تحت اثر آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز از سوبسترای آرژینین سنتز می شود. این ترکیب به طور طبیعی توسط ایزوانزیم ماکروفازی و همچنین در سلول های ماهیچه صاف سنتز می شود (۱۹).

۱-۵-۱- عملکردهای زیستی نیتریک اکسید

- نیتریک اکساید باعث انبساط عضله صاف رگهای خونی می شود.

استیل کولین یک ماده گشاد کننده عروقی است که از طریق منبسط کردن عضله صاف رگهای خونی عمل می کند که این عمل را از طریق افزایش رها سازی NO انجام می دهد. داروی مهم گشاد کننده شریان کرونری یعنی نیتروگلیسرین که کاربرد گسترده ای برای برطرف کردن آنژین صدری دارد، از طریق افزایش رهاسازی داخل سلولی Endothelial delivery relaxation factor (EDRF) و لذا cGMP عمل می کند.

به شکل کاملاً غیرمنتظره ای معلوم شد که EDRF همان اکسید نیتریک (NO) است. NO به وسیله آنزیم NO سنتاز که یک آنزیم سیتوزولی است ساخته می شود. شکل های اندوتلیال و نوروئی NO سنتاز به وسیله Ca^{2+} فعال می شوند، سوسترای این آنزیم آرژینین است و محصولات آن سیترویلین و NO هستند.



NO سنتاز یک آنزیم بسیار پیچیده است و از پنج کوفاکتور ردوکس استفاده می کند که عبارتند از: HEME, FMN, FAD, NADPH و تتراهیدروبیوپتیرین.

NO می تواند از نیتريت تشکیل شود که از مواد گشاد کننده عروقی همچون گلیسريل تری نترات در جریان متابولیسم آن ها مشتق می شود. نیمه عمر NO در بافت ها بسیار کوتاه است (تقریباً ۳-۴ ثانیه). چون با اکسیژن و سوپراکسید واکنش می کند محصول واکنش آن با سوپراکسید، پراکسی نیتريت ($ONOO^-$) است که پس از تجزیه شدن رادیکال OH° را که بسیار فعال است تولید می کند. NO به وسیله هموگلوبین و سایر پروتئین های هم دار که قویاً به آن متصل می شوند مهار می گردد. تجویز مهار کننده های شیمیایی NO سنتاز به حیوانات و انسان سبب انقباض عروقی و بالا رفتن

شدید فشار خون می شود و این نشان می دهد که NO اهمیت زیادی در تنظیم فشار خون در داخل بدن دارد.

- میانجی عصبی در مغز و دستگاه عصبی خودکار

- نقش در نیروزایی طولانی مدت.

- مهار چسبندگی، فعال شدن و تجمع پلاکتها

- NO با افزایش سنتز cGMP به صورت مهار کننده ای برای تجمع پلاکت ها عمل می کند.

- NO در ایجاد اسپاسم پیلور در تنگی هیپرتروفیک پیلور در دوران شیرخوارگی نقش دارد (۲۰).

نیتریک اکساید به وسیله واکنش با O_2 در یک بافر مایی تبدیل به نیتريت NO_2 می شود و این سرعت تبدیل به طور گسترده ای برای تعیین کردن غلظت NO استفاده می شود. در حد اکثر غلظت بیولوژیکی (۱ تا ۵ میکرو مولار) نیمه عمر NO در شرایط *in vitro* چند دقیقه است. این غلظت خیلی زیادتر از غلظت نرمال فیزیولوژیکی آن است. نیمه عمر بیولوژیکی آن کمتر از ۵ ثانیه است، این مطلب نشان می دهد که در شرایط *in vivo* نیتریک اکساید با کمترین واکنش با اکسیژن و یا سایر مولکول های بیولوژیکی تغییر می کند (۲۱).

NO می تواند با اکسیژن مولکولی O_2 واکنش داده و نیتريت را تولید کند. این واکنش در غلظت فیزیولوژیکی O_2 بسیار آهسته است.

NO با یون پر اکسید واکنش داده و پراکسی نیتريت را که عامل سایتو توکسیک و همچنین یک عامل باکتری کش است را به وجود می آورد.

نیتریک اکساید همچنین در فعالیت بسیاری از پروتئین های هم دار مداخله می کند و NO با ترکیب هم-آهن موجود در هموگلوبین و میوگلوبین واکنش داده و نترات تولید می کند. اتصال NO به هم باعث جلوگیری از فعالیت بعضی آنزیم ها مانند سایتوکروم اکسیداز و کاتالاز و سایتو کروم P450 می شود (۲۱).

ثابت شده است که NO یا مولکول های مربوط به آن می توانند قسمت سیستئین دار پروتئین ها را به وسیله سه واکنش شیمیایی S- نیتروزیلایون، اکسیداسیون و ADP ریبوزولاسیون تغییر می دهد.

مفهوم استرس نیتروزیاتو از آنجا به وجود آمده است که نیتروزیلایون می تواند به سطح پر خطری برسد. در شرایط خاصی نیتروزیلایون ممکن است مستقیماً جلوی عملکردهای پروتئین ها را بگیرد و یا تغییرات اکسیداتیو زیان آور را افزایش بدهد.

در سطح استرس سلولی نیتروزیاتو منجر به جلوگیری از رشد سلولی و آپوپتوزیس شده و ممکن است سبب بسیاری از بیماری ها گردد.

واکنش نیتریک اکساید (NO) با برخی ترکیبات بیولوژیکی مانند فلزات و گروه تیول و اکسیژن مولکولی (O_2) و رادیکال سوپر اکسید (O_2^-) محصولات ثانوی متنوعی مانند ترکیبات بی ضرر اکسید شده نیتريت و نترات و همچنین ترکیبات واسط فعال مانند نیتروزونیوم (NO^+) و پراکسی نیتريت ($ONOO^-$) و نیتروزوتیول ها (RSNO) و آنیون نیتروکسیل (NO^-) و دی نیتروژن تری اکسید (N_2O_3) و نیتروژن دی اکساید (NO_2) تولید می کند

این گونه های فعال و همچنین خود NO با برخی بیومولکول ها واکنش داده و باعث اکسیداسیون لیپید ها و تغییر پروتئین ها (سیستئین و تیروزین) و آسیب DNA می شود. آسیب DNA به وسیله تغییر بازهای موجود در ترکیب DNA و القای فعالیت آنزیمی به وجود می آید.

N- نیتروزامین ها (N-nitrosamines) و S- نیتروزوتیول ها (S-nitrosothiols) از اضافه شدن نیتروزونیوم به بخش های آمینی و تیولی تشکیل می شود، HNO_2 نیز یک عامل نیتروژن دار است که به راحتی در محیط های با سطح pH پائین مانند معده به وجود می آید. دی نیتروزیل آهن با ماکروفاژها و هپاتوسیت هایی که به وسیله سیتوکین ها و LPS فعال شدند کمپلکس شده است، که ممکن است مکانیسمی برای نیتروزاسیون باشد.