

NITROVANÉ MASTNÉ KYSELINY – NOVÁ SKUPINA SIGNÁLNÍCH MOLEKUL

HANA NĚMČÁKOVÁ, IVETA HNÍZDOVÁ,
LENKA LUHOVÁ a MAREK PETŘIVALSKÝ

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity
Palackého, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc
marek.petrivalsky@upol.cz

Došlo 21.12.09, přijato 14.1.10.

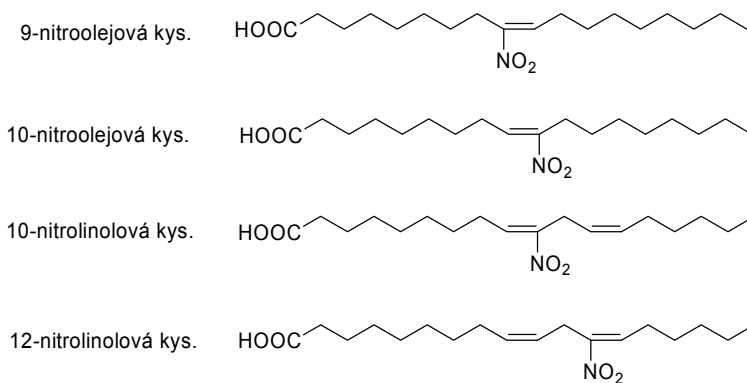
Klíčová slova: nitrované mastné kyseliny, kyselina nitrolinolová, kyselina nitroolejová, oxid dusnatý, receptory aktivované proliferátory

Obsah

1. Úvod
2. Struktura nitrovaných mastných kyselin
3. Mechanismy vzniku nitrovaných mastných kyselin
 - 3.1. Reakce NO s produkty oxidace mastných kyselin
 - 3.2. Nitrace mastných kyselin reaktivními formami dusíku
4. Vlastnosti nitrovaných mastných kyselin *in vivo*
 - 4.1. Výskyt nitrovaných mastných kyselin
 - 4.2. Stabilita a reaktivita
 - 4.3. Biologické účinky
 - 4.3.1. Nitrované mastné kyseliny jsou ligandy receptorů aktivovaných proliferátory peroxisomů
 - 4.3.2. Protizánětlivé účinky nitrovaných mastných kyselin
5. Závěr

1. Úvod

Nitrované mastné kyseliny (nitro-MK) představují jednu z forem vzájemného propojení signálních drah dvou skupin významných regulátorů buněčných funkcí: eikosanoidů, vznikajících oxidačními přeměnami nenasycených mastných kyselin, a reaktivních forem dusíku (reactive nitrogen species, RNS) odvozených od oxidu dusnatého (NO). Nitro-MK byly popsány v 90. letech v experimentech *in vitro* jako vedlejší produkty reakcí RNS s radikálovými meziprodukty oxidace mastných kyselin v membránových lipidech, vyvolaných působením reaktivních forem kyslíku (reactive oxygen species, ROS)^{1–4}. Další výzkumy prokázaly, že vzájemné interakce RNS a oxidovaných mastných kyselin mohou mít zásadní význam při regulaci prooxidačních i antioxidantních pochodů při imunitní odpovědi a rozvoji zánětlivých procesů^{5,6}. Zásadní pokrok znamenaly publikace prokazující vlastní významné biologické účinky nitro-MK^{7–9} a navazující studie potvrzující vznik a výskyt nitro-MK *in vivo* v biologicky relevantních koncentracích^{10–12}. Současné poznatky potvrzují, že nitro-MK nejsou pouhými biomarkery nitrosacího stresu, pro který je charakteristická nadměrná produkce reaktivních forem dusíku a kyslíku, ale že patří mezi důležité signální molekuly tvořené v rámci buněčných odpovědí na oxidativní a zánětlivé procesy a zapojené do antioxidantních signálních drah¹³. Tyto látky byly prozatím intenzivně zkoumány u člověka a živočichů, u nichž byly nalezeny v tělních tekutinách a některých tkáních zejména nitroderiváty kyseliny olejové, linolové a arachidonové^{14,15}. O vzniku a funkci těchto látek v jiných typech organismů však zatím žádné zprávy publikovány nebyly.



Obr. 1. Přehled nejvýznamnějších zástupců nitrovaných mastných kyselin

2. Struktura nitrovaných mastných kyselin

Nitro-MK vznikají vnesením nitroskupiny do molekuly mastné kyseliny substitucí na jednom z uhlíků nenasyčených vazeb za vzniku typické nitroalkenové struktury (obr. 1). Počet nenasyčených vazeb v molekule mastné kyseliny tak udává počet možných isomerů příslušných mononitroderivátů. Zatímco v případě kyseliny olejové je popsán výskyt dvou isomerů, tj. 9- a 10-nitro-9-oktadecenová kyselina, nitrací kys. linolové nebo arachidonové mohou vzniknout celkem 4, případně 8 polohových isomerů¹³.

Kromě nejhojněji se vyskytující kys. nitroolejové a nitrolinolové byly popsány také nitroderiváty kys. linolenové a eikosapentanové. V lipoproteinech lidské plasmby byly nalezeny a charakterizovány nitroderiváty cholesteryllinolátu¹¹. Vedle mononitroderivátů mastných kyselin byl popsán také výskyt příbuzných nitrohydroxy- a nitroalkylových derivátů, jejichž biologické vlastnosti a účinky však nejsou zatím prozkoumány^{16–18}.

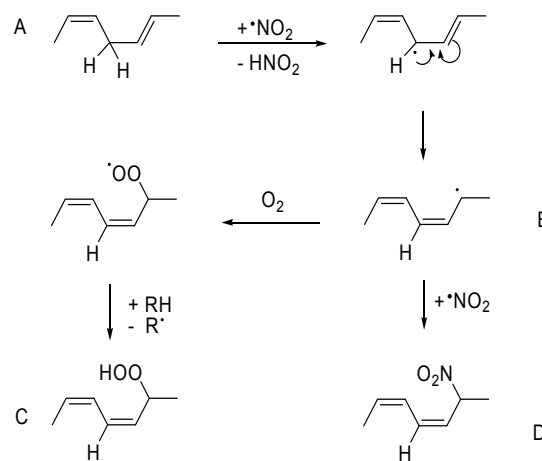
Mastné kyseliny se v biologických systémech obecně vyskytují ve volné či esterifikované formě. O výskytu a metabolismu nitro-MK v jejich esterifikované formě, tj. vázaných v membránových lipidech, není také doposud prakticky nic známo. Předpokládá se, že esterifikace nitro-MK do molekul lipidů může být formou jejich stabilizace a tvorby rezervoáru nitro-MK v hydrofóbním prostředí membrán, odkud mohou být opět uvolněny působením enzymů esteras a fosfolipas¹⁹.

3. Mechanismy vzniku nitrovaných mastných kyselin

Zatímco v experimentálních podmínkách *in vitro* byla popsána celá řada postupů přípravy nitro-MK²⁰, nejsou dráhy biosyntézy nitro-MK zatím zcela objasněny^{15,19,21,22}. Na základě znalosti reakčních mechanismů nitračních reakcí lze předpokládat existenci zejména dvou cest vzniku nitro-MK (cit.^{9,23}): (1) reakci radikálu NO s peroxylovým radikálem vznikajícím při oxidaci nenasyčených mastných kyselin a (2) reakci reaktivních forem dusíku s nenasyčenými mastnými kyselinami.

3.1. Reakce NO s produkty oxidace mastných kyselin

Nitrace lipidů radikálem NO probíhá v závislosti na koncentraci NO, koncentraci ROS, přítomnosti antioxidantů

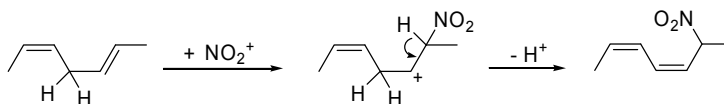


Obr. 2. Schematické znázornění vzniku nitrovaných mastných kyselin. A. Mastná kyselina se působením NO_2 přeměňuje na radikál B. Reakce radikálu B s O_2 poskytuje peroxyradikál a následně hydroperoxy (C), nebo radikál B reaguje s dalším NO_2 za vzniku konjugovaných nitrosloučeníny (D) (upraveno podle cit.¹¹)

tů a lapačů radikálů, tj. látek se schopností reagovat s NO a ROS v konkurenčních reakcích. Při nitračních reakcích jsou spotřebovány 2 molekuly NO na jeden lipidový radikál ($\text{ROO}\cdot$). V případě nitrace kyseliny linolové reaguje peroxylový radikál $\text{LOO}\cdot$ s jednou molekulou NO za vzniku peroxyxynitrového meziprojektu LOONO , který se dále přeměňuje na tzv. „klíčkový“ radikálový meziprojekt $\text{LO}\cdot\text{NO}_2$ (obr. 2). Druhá molekula NO poté reaguje s alkoxylovým radikálem $\text{LO}\cdot$ za vzniku kyseliny nitrolinolové nebo různých epoxyderivátů²⁴.

3.2. Nitrace mastných kyselin reaktivními formami dusíku

Nitrace mastných kyselin se potenciálně může účastnit řada reaktivních forem dusíku, jako jsou oxid dusičitý (NO_2), peroxydusitan (ONOO^-), kys. dusitá (HNO_2) a nitrosylový kation (NO_2^+) (cit.²⁵). NO_2 reaguje přímo s mastnými kyselinami v lipidech membrán a lipoproteinech. Nitrační mechanismus je zahájen dehydrogenací na allylovém uhlíku za vzniku kyseliny dusité a rezonančně stabilizovaného allylového radikálu lipidu. Tento radikál poté reaguje s molekulárním kyslíkem za vzniku peroxylového radikálu, nebo s další molekulou NO_2 za vzniku širokého spektra nitrovaných produktů.



Obr. 3. Nitrace mastných kyselin mechanismem elektrofilní adice (upraveno podle cit.¹¹)

Obdobně nitrované sloučeniny mohou vzniknout nitrací nenasycených mastných kyselin za přítomnosti dusitanů v kyselém prostředí (obr. 3). Tato kyselá katalyzovaná nitrace adicí nitrosylového kationtu NO_2^+ probíhá u živočichů v prostředí s nízkou hodnotou pH, např. v žaludku (cit.^{11,12}). Specifické enzymy živočišných buněk jako např. myeloperoxidasa, mohou také katalyzovat přeměnu dusitanu na silné nitrační činidlo NO_2 .

4. Vlastnosti nitrovaných mastných kyselin *in vivo*

4.1. Výskyt nitrovaných mastných kyselin

Volná kyselina nitrolinolová (LNO_2) se vyskytuje v krvi, ve formě esterů ji lze nalézt v lipoproteinech krevní plazmy a membráně červených krvinek. Přítomnost kyseliny nitroolejové (OA-NO_2) byla obdobně zjištěna v krevní plasmě, červených krvinkách a v moči (tab. I, cit.¹⁶). V krvi je koncentrace OA-NO_2 asi o 50 % vyšší než koncentrace LNO_2 .

Odhaduje se, že přibližně 80 % LNO_2 se v organismu živočichů vyskytuje v esterifikované formě. Hlavní roli v regulaci uvolňování volné LNO_2 z lipidů hrají enzymy lipasa a fosfolipasa¹². Při zprostředkování buněčných signálních dějů může být LNO_2 uvolněna z membrány fosfolipasou A_2 .

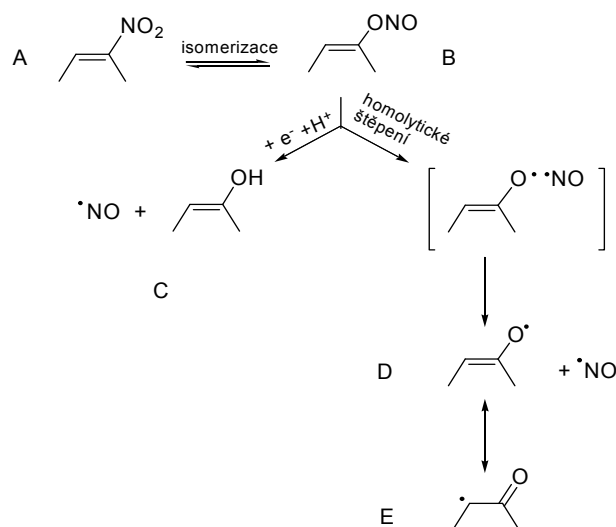
4.2. Stabilita a reaktivita

Je známo, že syntetické nitro-MK jsou výrazně stabilnější v hydrofóbním prostředí připomínajícím lipidovou membránu. Důkazem toho je inhibice rozkladu LNO_2 v prostředí *n*-oktanolu v lipidové dvojvrstvě liposomů. Z toho lze usoudit, že hydrofóbní prostředí buněčných membrán a lipoproteinů může sloužit jako rezerva nitro-MK a z nich případně uvolněného NO (cit.²⁶). Stabilita nitro-MK v lipofilním prostředí oproti vodnému reprezentuje hydrofóbní „přepínač“, který významným způsobem

Tabulka I

Koncentrace kyselin nitroolejové a nitrolinolové v tělních tekutinách člověka (upraveno podle cit.¹⁶).

Zdroj	Forma	Nitroolejová [nM]	Nitrolinolová [nM]
Plasma	volná	619 ± 52	79 ± 35
	esterifikovaná	302 ± 369	550 ± 275
	celkem	921 ± 421	630 ± 240
Červené krvinky	volná	59 ± 11	50 ± 17
	esterifikovaná	155 ± 65	199 ± 121
	celkem	214 ± 76	249 ± 104
Moč		5,40 ± 52	2,28 ± 0,84

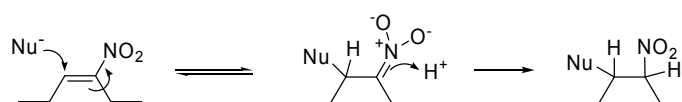


Obr. 4. Reakční mechanismy rozkladu nitrovaných mastných kyselin ve vodném prostředí. Nitroderiváty mastných kyselin (A) mohou isomerovat na nitritoderiváty (B), které jsou dále redukovány (C) nebo homolyticky štěpeny (D) (upraveno podle cit.¹¹)

kontroluje biologickou aktivitu nitro-MK. Rozdělení LNO_2 mezi různé buněčné části je řízeno rozdělovací konstantou $K \sim 1500$ pro hydrofóbní prostředí²⁶.

Vodné prostředí naopak rozklad nitrovaných lipidů urychluje, kyselina nitrolinolová se rozkládá ve vodném prostředí za současného uvolnění NO (cit.²⁷). Mechanismus uvolnění NO ze sloučenin jako jsou organické nitráty a nitrity *in vivo* není stále přesně objasněno a pravděpodobně probíhá v různých podmínkách různými způsoby. V souvislosti s chemickou reaktivitou nitroalkanů bylo objasněno, jak mohou nitrované mastné kyseliny sloužit k přenosu signálu NO (cit.²³). Rozklad nitro-MK je spojen s isomerizací nitroalkenu na odpovídající nitritoderiváty (obr. 4). Následně homolytické štěpení nebo redukce vede k uvolnění molekuly radikálu NO. Za podmínek homolytického štěpení budou současně vznikat také lipidové radikály. Bylo pozorováno, že 9-nitrolinolová kyselina podléhá ve vodném prostředí rozkladu daleko vyšší rychlostí než její isomer kys. 10-nitrolinolová, pravděpodobně v souvislosti s vyšší kapacitou 9-isomeru odštěpovat vodík jako následek vyšší stability pentadienylového radikálu při poloze nitroskupiny na terminálním uhlíku²⁸.

Nitroskupina je v důsledku vysoké elektronegativity jedním z nejsilnějších elektronových akceptorů. Reakcí nitroskupiny s alkenem získává výsledný nitroalken elektrofilní vlastnosti, které významně podporují jeho potenciální reakci s nukleofily v Michaelově adiční reakci^{21,29}. Nitrované mastné kyseliny mohou reagovat s buněčnými nukleofily, jako jsou thiolové skupiny proteinů a peptidu glutathionu. Nukleofil, např. thiolát, atakuje β -uhlík dvojné vazby nitroalkenu za vzniku nitroalkylderivátu proteinu (obr. 5).



Obr. 5. Schéma reakce nitrovaných mastných kyselin s nukleofily

Tato reakce představuje reverzibilní kovalentní modifikaci proteinů a enzymů s výrazným vlivem na jejich strukturu a funkci. Produkty reakcí nitrovaných mastných kyselin s proteiny nebo s glutathionem byly detegovány v lidském organismu²⁹. Protože intracelulární koncentrace redukovaného glutationu je vysoká, řádově milimolární, bude se na něj vázat většina přítomných nitroalkenů. Konjugát LNO₂-GSH je transportován ven z buňky přenašečovým proteinem spojeným s mnohočetnou lékovou rezistencí. Konjugace s GSH hraje tedy klíčovou roli při zprostředkování biologické aktivity kys. nitrolinolové³⁰. Nedávná metabolická studie ukázala, že významný podíl kys. nitrolejové podané nitrožilně myším byl reverzibilně konjugován s glutathionem a že nitrované mastné kyseliny jsou metabolizované převážně cestou hydratace dvojných vazby a β-oxidací probíhající až po uhlík s navázanou nitroskupinou³¹.

Modifikace proteinů nitroalkenací vede obecně k významnému zvýšení hydrofobicity proteinu. Např. u enzymu glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenasy bylo zjištěno, že nitroalkenace vede k jeho inhibici a současně k relokalizaci z cytoplasmy do buněčné membrány³².

4.3. Biologické účinky

Nitroderiváty mastných kyselin tvoří skupinu endogenních signálních mediátorů, jejichž biologické účinky jsou založeny zejména na třech hlavních mechanismech: uvolnění molekuly NO, adiční reakce s nukleofilními skupinami peptidů a proteinů a schopnost působit jako ligandy receptorů proliferace peroxisomů.

V lidském cévním systému představují nitro-MK jednu ze skupin látek, které jsou považovány za tzv. biologicky aktivní formy NO schopné za určitých podmínek NO zpět uvolňovat. Nitro-MK v lipidech membrán a lipoproteinů mohou, podobně jako látky ze skupiny nitrosothiolů, přenášet signální účinek NO na větší vzdálenosti a podílet se tak např. na regulaci signálních cest při vzniku a rozvoji zánětu²¹. Z dosavadních studií *in vivo* vyplývá, že účinky nitro-MK související s uvolněním NO jsou obecně ve srovnání s ostatními mechanismy účinků spíše méně významné¹⁴. Bylo popsáno, že účinky kys. nitrolinolové, významného zástupce nitro-MK, mohou souviset se signálními drahami závislými i nezávislými na cyklickém guanosinmonofosfátu (cGMP). Nitrolinolát indukují relaxaci hladkých svalových buněk cGMP-závislým mechanismem¹². NO uvolněný z molekuly LNO₂ se váže do aktivního místa enzymu guanylátcyklasy, jehož zvýšená aktivita vede ke zvýšení vnitrobuněčné koncentrace cGMP a následně k relaxaci hladkého svalstva cév.

4.3.1. Nitrované mastné kyseliny jsou ligandy receptorů aktivovaných proliferátory peroxisomů

Peroxisomy jsou buněčné organely, produkující a uvolňující reaktivní formy kyslíku a oxid dusnatý, které hrají významnou roli při vnitrobuněčné signalizaci³³. Tzv. proliferace peroxisomů může být vyvolána mnoha strukturálně odlišnými sloučeninami a je obecně spojena s metabolismem lipidů v peroxisomech³⁴. Peroxisomální proliferátory aktivují skupinu transkripčních faktorů, společně známých jako receptory aktivované proliferátory peroxisomů (PPARs) a patřících do superrodiny jaderných receptorů. Aktivované PPARs stimulují expresi řady genů, např. genů enzymů metabolické dráhy β-oxidace mastných kyselin v peroxisomech³⁵. Skupina PPARs zahrnuje isoformy PPAR α, β a γ. O receptoru PPARγ je známo, že se účastní regulace metabolismu lipidů, diferenciace adipocytů a homeostázy glukosy^{26,30}. Nové poznatky ukazují, že kromě adipocytů je PPARγ vysoce exprimován v epiteliálních buňkách tlustého střeva a že hraje důležitou roli v rozvoji zánětlivých a rakovinných procesů³⁶. Mezi syntetické ligandy patří rosiglitazon a ciglitazon, látky ze skupiny thiazolidindionových léků používané při léčbě diabetu³⁰. Jako endogenní ligandy receptoru PPARγ *in vivo* byly již dříve popsány látky, jako jsou lysofosfatidové kyseliny (16:0 a 18:1), 15-deoxy-Δ^{12,14}-prostaglandin J₂ a azelaoyl-fosfocholin, ty se však v organismech živočichů nevyskytují v biologicky relevantních koncentracích. Kys. nitrolinolová byla popsána jako nejsilnější známý ligand PPARγ, účinný již v submikromolárních koncentracích²⁶, ligandem receptoru je také kyselina nitrolejová, která je oproti LNO₂ stabilnější ve vodném prostředí¹⁶. Nedávná zveřejněná studie rentgenové analýzy krystalů proteinu s navázaným ligandem LNO₂ umožnila lépe popsat mechanismus vazby nitroalkenu do vazebné domény receptoru³⁷.

4.3.2. Protizánětlivé účinky nitrovaných mastných kyselin

Rozvoj zánětlivých procesů je spojen s nadměrnou produkcí ROS nebo vyčerpáním intracelulárních antioxidantů, což vede k nerovnováze v redoxním stavu buňky a oxidativním modifikacím buněčných komponent. Produkty metabolismu hemu jsou součástí ochranných systémů proti oxidativnímu stresu díky jejich schopnosti lapat ROS. Degradaci hemu katalyzuje enzym hemoxygenasa (HO, EC 1.14.99.3), který rozkládá hem na biliverdin za současného uvolnění oxidu uhelnatého a železa. Biliverdin je následně biliverdinreduktasou (EC 1.3.1.24) přeměněn na bilirubin³⁸. Metabolismus hemu je také důležitý ve vztahu k syntéze proteinů obsahujících hem, katalasy (EC 1.11.1.6) a cytochromu P450 (cit.³⁹). Bylo zjištěno, že kys.

nitrolinolová indukuje expresi isoformy HO-1 a je tedy součástí signálních drah potlačující zánětlivé odpovědi. Následná studie ukázala, že indukce exprese isoformy HO-1 je také ovlivňována PPAR γ , což ukazuje na další významné zapojení nitrovaných mastných kyselin v protizánětlivých odpovědích prostřednictvím jejich schopnosti působit jako ligandy PPAR receptorů^{38,40}.

Účast hlavních zástupců nitrovaných mastných kyselin, kys. nitroolejové a nitrolinolové, byla dále prokázána na řadě experimentálních modelů. Nitro-MK inhibují sekreci cytokininů z makrofágů²³ a shlukování krevních destiček⁹. Tyto látky mají také silné inhibiční účinky na produkci superoxidu, degranulaci a expresi integrinu v lidských neutrofilech⁸ a na indukci NO syntasy v makrofázích⁴¹. Nitroolejová kyselina vykazuje protektivní vlastnosti při ischemickém a reperfučním poškození ledvin *in vivo* u kryš⁴². Kys. nitroolejová je silným inhibiátorem xanthinoxidoreduktasy, což může vést k výraznému snížení produkce ROS xanthinoxidasou *in vivo* v zánětlivých ložiscích⁴³. Byla pozorována také inhibice zánětu indukovaného faktorem nádorové nekrózy v kultuře endotelových buněk vln lidského pupečníku⁴⁴ a represe prozánětlivých odpovědí na bakteriální lipopolysacharid v makrofázích⁴⁵.

5. Závěr

Nitrované mastné kyseliny představují novou skupinu signálních molekul, ve které se prolínají signální dráhy oxidovaných lipidů a oxidu dusnatého. Přestože v současnosti máme k dispozici řadu poznatků o biosyntéze, metabolismu a signálních drahách nitro-MK u živočichů, zůstává v řadě případů přesný mechanismus na molekulární úrovni pouze omezeně objasněn. Aktuální výsledky naznačují, že pro správné pochopení fyziologické úlohy nitrovaných mastných kyselin bude také potřeba vypracovat a rutinně používat robustní a spolehlivé analytické metody stanovení jejich obsahu v biologických vzorcích⁴⁶. Prozatím nezodpovězenou otázkou zůstává, zda podobné látky vznikají a mají biologické funkce i v jiných typech organismů kromě živočichů.

Tato práce byla podpořena prostředky výzkumným Záměru MSM 6198959215 a programem Kontakt ME08048.

Seznam zkratk

cGMP	cyklický guanosin-3',5'-monofosfát
GSH	redukovaný glutathion
LNO ₂	kyselina nitrolinolová
nitro-MK	nitrované mastné kyseliny
NO	oxid dusnatý
NOS	synthasa oxidu dusnatého
OA-NO ₂	kyselina nitroolejová
PPAR	receptor aktivovaný proliferátory peroxisomů
ROS	reaktivní formy kyslíku; XOD, xanthinoxidasa

LITERATURA

- Rubbo H., Radi R., Trujillo M., Telleri R., Kalyanaraman B., Barnes S., Kirk M., Freeman B. A.: *J. Biol. Chem.* 269, 26066 (1994).
- Rubbo H., Parthasarathy S., Barnes S., Kirk M., Kalyanaraman B., Freeman B. A.: *Arch. Biochem. Biophys.* 324, 15 (1995).
- d'Ischia M.: *Comp. Rendus Chimie* 8, 797 (2005).
- O'Donnell V. B., Eiserich J. P., Chumley P. H., Jablonsky M. J., Krishna N. R., Kirk M., Barnes S., Darley-Usmar V. M., Freeman B. A.: *Chem. Res. Toxicol.* 12, 83 (1999).
- Jiang H. L., Kruger N., Lahiri D. R., Wang D. R., Vatele J. M., Balazy M.: *J. Biol. Chem.* 274, 16235 (1999).
- O'Donnell V. B., Freeman B. A.: *Circ. Res.* 88, 12 (2001).
- Balazy M., Iesaki T., Park J. L., Jiang H. L., Kaminski P. M., Wolin M. S.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 299, 611 (2001).
- Coles B., Bloodsworth A., Clark S. R., Lewis M. J., Cross A. R., Freeman B. A., O'Donnell V. B.: *Circ. Res.* 91, 375 (2002).
- Coles B., Bloodsworth A., Eiserich J. P., Coffey M. J., McLoughlin R. M., Giddings J. C., Lewis M. J., Haslam R. J., Freeman B. A., O'Donnell V. B.: *J. Biol. Chem.* 277, 5832 (2002).
- Lima E. S., Di Mascio P., Rubbo H., Abdalla D. S. P.: *Biochemistry* 41, 10717 (2002).
- Lima E. S., Di Mascio P., Abdalla D. S. P.: *J. Lipid Res.* 44, 1660 (2003).
- Baker P. R. S., Schopfer F. J., Sweeney S., Freeman B. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 11577 (2004).
- Baker P. R. S., Schopfer F. J., O'Donnell V. B., Freeman B. A.: *Free Rad. Biol. Med.* 46, 989 (2009).
- Kalyanaraman B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 11527 (2004).
- Rubbo H., Radi R.: *Biochim. Biophys. Acta* 1780, 1318 (2008).
- Baker P. R. S., Lin Y. M., Schopfer F. J., Woodcock S. R., Groeger A. L., Batthyany C., Sweeney S., Long M. H., Iles K. E., Baker L. M. S., Branchaud B. P., Chen Y. Q. E., Freeman B. A.: *J. Biol. Chem.* 280, 42464 (2005).
- Napolitano A., Camera E., Picardo M., d'Ischia M.: *J. Org. Chem.* 65, 4853 (2000).
- Napolitano A., Panzella L., Savarese M., Sacchi R., Giudicianni I., Paolillo L., d'Ischia M.: *Chem. Res. Toxicol.* 17, 1329 (2004).
- Trostchansky A., Rubbo H.: *Free Rad. Biol. Med.* 44, 1887 (2008).
- Ferrari M., Trostchansky A., Ferreira A., Abdalla D., Rubbo H.: *Free Rad. Biol. Med.* 43, S170 (2007).
- Freeman B. A., Baker P. R. S., Schopfer F. J., Woodcock S. R., Napolitano A., d'Ischia M.: *J. Biol. Chem.* 283, 15515 (2008).

22. Rubbo H., Trostchansky A., O'Donnell V. B.: *Arch. Biochem. Biophys.* 484, 167 (2009).
23. Schopfer F. J., Lin Y. M., Baker P. R. S., Cui T. X., Garcia-Barrio M., Zhang J. F., Chen K., Chen Y. Q. E., Freeman B. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 2340 (2005).
24. Bloodsworth A., O'Donnell V. B., Freeman B. A.: *Arterioscler. Tromb. BASF. Biol.* 20, 1707 (2000).
25. Lim D. G., Sweeney S., Bloodsworth A., White C. R., Chumley P. H., Krishna N. R., Schopfer F., O'Donnell V. B., Eiserich J. P., Freeman B. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 5941 (2002).
26. Schopfer F. J., Baker P. R. S., Giles G., Chumley P., Batthyany C., Crawford J., Patel R. P., Hogg N., Branchaud B. P., Lancaster J. R., Freeman B. A.: *J. Biol. Chem.* 280, 19289 (2005).
27. Lima E. S., Bonini M. G., Augusto O., Barbeiro H. V., Souza H. P., Abdalla D. S. P.: *Free Rad. Biol. Med.* 39, 532 (2005).
28. Manini P., Capelli L., Reale S., Arzillo M., Crescenzi O., Napolitano A., Barone V., d'Ischia M.: *J. Org. Chem.* 73, 7517 (2008).
29. Baker L. M. S., Baker P. R. S., Golin-Bisello F., Schopfer F. J., Fink M., Woodcock S. R., Branchaud B. P., Radi R., Freeman B. A.: *J. Biol. Chem.* 282, 31085 (2007).
30. Alexander R. L., Bates D. J. P., Wright M. W., King S. B., Morrow C. S.: *Biochemistry* 45, 7889 (2006).
31. Rudolph V., Schopfer F. J., Khoo N. K. H., Rudolph T. K., Cole M. P., Woodcock S. R., Bonacci G., Groeger A. L., Golin-Bisello F., Chen C.-S., Baker P. R. S., Freeman B. A.: *J. Biol. Chem.* 284, 1461 (2009).
32. Batthyany C., Schopfer F. J., Baker P. R. S., Duran R., Baker L. M. S., Huang Y., Cervenansky C., Branchaud B. P., Freeman B. A.: *J. Biol. Chem.* 281, 20450 (2006).
33. Titorenko V. I., Rachubinski R. A.: *J. Cell Biol.* 165, 641 (2004).
34. Reddy J. K.: *Am. J. Pathol.* 164, 2305 (2004).
35. Nila A. G., Sandalio L. M., Lopez M. G., del Río L. A., Gomez M., Gomez-Lim M. A.: *Planta* 224, 569 (2006).
36. Dubuquoy L., Rousseaux C., Thuru X., Peyrin-Biroulet L., Romano O., Chavatte P., Chamailard M., Desreumaux P.: *Gut* 55, 1341 (2006).
37. Li Y., Zhang J., Zhang J., Schopfer F. J., Martynowski D., Garcia-Barrio M. T., Kovach A., Suino-Powell K.: *Nat. Struct. Mol. Biol.* 15, 865 (2008).
38. Wright M. M., Schopfer F. J., Baker P. R. S., Vidya-sagar V., Powell P., Chumley P., Iles K. E., Freeman B. A., Agarwal A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 4299 (2006).
39. Otterbein L. E., Choi A. M.: *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 279, L1029 (2000).
40. Wright M. M., Hock T. D., Freeman B. A., Agarwal A.: *Free Rad. Biol. Med.* 43, S161(2007).
41. Trostchansky A., Souza J. M., Ferreira A., Ferrari M., Blanco F., Trujillo M., Castro D., Cerecetto H., Baker P. R. S., O'Donnell V. B., Rubbo H.: *Biochemistry* 46, 4645 (2007).
42. Liu H. Y., Jia Z. J., Soodvilai S., Guan G. J., Wang M. H., Dong Z., Symons J. D., Yang T. X.: *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 295, F942 (2008).
43. Kelley E. E., Batthyany C. I., Hundley N. J., Woodcock S. R., Bonacci G., Del Rio J. M., Schopfer F. J., Lancaster J. R., Jr., Freeman B. A., Tarpey M. M.: *J. Biol. Chem.* 283, 36176 (2008).
44. Hwang J., Lee K. E., Lim J.-Y., Park S. I.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 387, 633 (2009).
45. Ferreira A. M., Ferrari M. I., Trostchansky A., Batthyany C., Souza J. M., Alvarez M. N., Lopez G. V., Baker P. R. S., Schopfer F. J., O'Donnell V., Freeman B. A., Rubbo H.: *Biochem. J.* 417, 223 (2009).
46. Tsikas D., Zoerner A., Mitschke A., Homsy Y., Gutzki F.-M., Jordan J.: *J. Chromatogr., B* 877, 2895 (2009).

H. Němčáková, I. Hnízdová, L. Luhová, and M. Petřivalský (*Department of Biochemistry, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc, Czech Republic*):
Nitrated Fatty Acids – New Class of Signalling Molecules

Nitrated lipids and fatty acids have recently emerged as a new class of signalling molecules in homeostasis regulation and in anti-inflammatory pathways in animals. This review summarizes the current knowledge and understanding of molecular mechanisms of their biosynthesis and signalling functions in animal cells. Nitrated fatty acids (NFA) represent a convergence of signalling pathways of oxidized lipids and nitric oxide (NO). Nitration of fatty acids *in vivo* occurs either by the reaction of NO with lipid radicals or by the attack of reactive nitrogen species on intermediates of lipid oxidation with reactive oxygen species. NFA are highly stable in hydrophobic membrane lipids, which can serve as their reservoir. Biological functions of NFA could be derived from their decomposition producing NO. Due to their high reactivity with cell nucleophiles such as protein thiols, protein nitroalkenylation occurs, which considerably affects protein structure and activity. NFA are also endogenous ligands of peroxisome proliferator-activated receptors. Thus they are involved in the signalling pathways of this receptor in glucose homeostasis and adipocyte proliferation. NFA were also identified as mediators of anti-inflammatory signalling through their suppressive action on inflammatory stimuli. Despite recent advances in research on NFA, our understanding of signalling pathways and metabolism of NFA *in vivo* is still limited. Current research is focused on NFA as endogenous ligands and activators of peroxisome proliferator-activated receptor.