

Универзитет у Београду
Факултет спорта и физичког васпитања
Мастер академске студије



АПЛИКАТИВНА СТРАНА НАУЧНОГ САЗНАЊА
О АЗОТ – МОНОКСИДУ У СПОРТСКОМ
ПЛИВАЊУ И ВЕЖБАЊУ У ВОДИ*

- мастер рад -

Ментор:
ред. проф. др Бранислав Јевтић

Студент:
Александра Обрадовић

Београд, 2023.

* Нобелова награда за медицину и физиологију, 1998.

Универзитет у Београду
Факултет спорта и физичког васпитања



АПЛИКАТИВНА СТРАНА НАУЧНОГ САЗНАЊА
О АЗОТ - МОНОКСИДУ У СПОРТСКОМ
ПЛИВАЊУ И ВЕЖБАЊУ У ВОДИ*
- мастер рад -

Ментор:
ред. проф. др Бранислав Јевтић

Студент:
Александра Обрадовић

Чланови комисије:

ван. проф. др Бранка Марковић

др Марија Анђелковић

Запажања о раду:

Београд, 2023.

*Мом брату **Филипу**, који ће ми заувек бескрајно недостајати,
уз вечни осећај љубави и захвалности за све добро и лепо
што смо заједно проживели и што сам уз њега научила.*

САЖЕТАК

Азот - моноксид познат је као молекул веома једноставне структуре, дуго сматран изразито токсичном супстанцом. Услед могућности ендogene биосинтезе и варијетета биолошког деловања које поседује, сматра се паракрином супстанцом од изузетног фармаколошког, физиолошког и патофизиолошког интереса. Имајући у виду бројне негативне еколошке и здравствене ефекте које остварује на човекову околину, деценијама су улагани изузетно велики иницијални напори да се он у извесној мери из ње потисне. Међутим, открића која су осамдесетих година прошлог века повела у нове сазнајне искоракe у области хемије, физиологије и медицине, довела су до запањујућег закључка – да опстанак најдоминантније врсте на Земљи у великој мери зависи управо од његове (био)синтезе. Нобелова награда која је 1998. године додељена за откриће које се тиче његове сигналне улоге у људском организму отворила је низ специфичних питања, која се односе превасходно на место и улогу овог молекула у различитим биохемијским процесима који се у људском организму, у различитим условима, непрестано одвијају. Сходно томе, теоријска и емпиријска питања улоге азот-моноксида у пливању, тренингу али и општем здрављу пливача (вежбача) у води предмет су овог рада.

Кључне речи: Пливање / Азот – моноксид / Нобелова награда /
Исхрана пливача / Опоравак / Адаптација

ABSTRACT

Nitric Oxide is known as a molecule with a very simple structure, which has been considered as an extremely toxic substance for a long period of time. Due to possibility of endogenous biosynthesis, and also to the variety of biological action it possesses, it is considered as paracrine substance of exceptional pharmacological, physiological and pathophysiological interest. Knowing the numerous negative ecological and health effects that he has on the human environment, extremely large initial efforts have been made for decades, to suppress it from the environment. However, the discoveries that in the 80's led to new scientific advances in the fields of chemistry, physiology and medicine, brought to a stunning conclusion - that the survival of the most dominant species on Earth largely depends on its (bio)synthesis. The Nobel Prize awarded in 1998, for the discovery of signaling role of Nitric Oxide in the human organism, opened up a series of specific questions, primarily related to the place and role of this molecule in various biochemical processes that are constantly occurring in the human organism under different conditions. Accordingly, the theoretical and empirical issues of the role of nitrogen monoxide in swimming, training, and the general health of swimmers are the subject of this paper.

Key words: Swimming / Nitric Oxide / Nobel Prize / Swimming nutrition / Recovery / Adaptation

САДРЖАЈ

САЖЕТАК	4
ABSTRACT.....	5
САДРЖАЈ	6
ПОПИС КОРИШЋЕНИХ СКРАЋЕНИЦА.....	8
1. УВОД.....	9
2. ТЕОРИЈСКИ ОКВИР, ПРЕДМЕТ, ЦИЉ, ЗАДАЦИ И МЕТОДЕ РАДА.....	12
2.1. ДОКТРИНА НАУКА О КРЕТАЊУ ПЛИВАЊЕМ.....	12
2.2. ЦИЉ РАДА	15
2.3. МЕТОДЕ РАДА	15
3. АЗОТ-МОНОКСИД - ИСТРАЖИВАЧКА ДОКТРИНА ПРЕДМЕТА РАДА	16
3.1. ОСНОВНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ МОЋНОГ АЕРОЗАГАЂИВАЧА	16
3.2. ПУТ ОД СЛУЧАЈНОГ ОТКРИЋА ДО НОБЕЛОВЕ НАГРАДЕ	19
3.3. БИОСИНТЕЗА И (ИН)АКТИВАЦИЈА АЗОТ-МОНОКСИДА У ОРГАНИЗМУ ЧОВЕКА	24
3.4. ДИСТРИБУЦИЈА И ТРАНСПОРТ – КА ДОКТРИНИ ФИЗИОЛОГИЈЕ КРЕТАЊА ПЛИВАЊЕМ.....	34
4. (ПАТО)ФИЗИОЛОШКЕ ФУНКЦИЈЕ АЗОТ – МОНОКСИДА У ОРГАНИЗМУ ЧОВЕКА	38
4.1. МЕТОДЕ МЕРЕЊА КОНЦЕНТРАЦИЈЕ АЗОТ - МОНОКСИДА	41
5. МЕХАНИЗМИ ДЕЛОВАЊА – КА ДОКТРИНИ НАУКА О ЗДРАВЉУ КРЕТАЊЕМ - ПЛИВАЊЕМ	43
5.1. СИНТЕЗА И УЛОГЕ У РЕСПИРАТОРНОМ СИСТЕМУ	44
5.2. СИНТЕЗА И УЛОГЕ У КАРДИОВАСКУЛАРНОМ СИСТЕМУ	50
5.3. СИНТЕЗА И УЛОГЕ У НЕРВНОМ СИСТЕМУ, МОТОРНОМ УЧЕЊУ И ИНТЕЛЕКТУАЛНОМ РАЗВОЈУ	60
6. ПЛИВАЊЕ И ВЕЖБАЊЕ У ВОДИ – ФЕНОМЕН НА ТРОМЕЋИ ЗДРАВЉА, НАУКЕ И СПОРТА.....	64
6.1. АЗОТ – МОНОКСИД У ПРОЦЕСУ ТРАНСФОРМАЦИЈЕ ПЛИВАЧКИХ ВЕШТИНА И КОМПЕТЕНЦИЈА	67
6.2. АЗОТ – МОНОКСИД У ПРОЦЕСУ ОПОРАВКА И РЕХАБИЛИТАЦИЈЕ ПЛИВАЧА	71

6.3.	АЗОТ – МОНОКСИД У ИСХРАНИ ПЛИВАЧА	76
6.4.	АЗОТ – МОНОКСИД У ПРОЦЕСУ АДАПТАЦИЈЕ ОРГАНИЗМА ПЛИВАЧА НА ЗАХТЕВЕ ТРЕНИНГА И ТАКМИЧЕЊА	83
7.	ЗАКЉУЧАК.....	87
8.	ЛИТЕРАТУРА.....	92

Попис коришћених скраћеница

*Скраћенице коришћене у овом раду поређане су по алфавитном реду.

ACh – ацетилхолин

BH₄, THB – тетрахидробиоптерин

CaM – калмодулин

cGC – растворљива гванилил-циклаза

cGMP – циклични гуанозин-монофосфат

CRF – кардиореспираторни фитнес

EDRF (*Endothelium-derived relaxing factor*) – релаксирајући фактор пореклом из ендотела

eNOS (*Endothelial NOS*) - ендотелијална азот-моноксид синтаза

FAD – флавин - аденин динуклеотид

FMN – флавин мононуклеотид

GTP – гуанозин-трифосфат

Hb – хемоглобин

iNOS (*Inducible NOS*) - индуцибилна азот-моноксид синтаза

L-NAME – L-Nitro-Arginin-Methyl-Ester – инхибитор NOS

MABP – Mean arterial blood pressure – средњи артеријски притисак

MCV – *Mean Corpuscular Volume* – просечна величина еритроцита

NADPH – никотинамид аденин динуклеотид фосфат

nNOS (*Neuronal NOS*) – неуронска азот-моноксид синтаза

NO (*Nitric Oxide*) – азот-моноксид

NOS (*Nitric Oxide Synthase*) – ензим азот-моноксид синтаза

RNS – *Reactive Nitrogen Species* – реактивне азотне врсте

VOCs – *Volatile organic compounds* – испарљива органска једињења

WHO – Светска здравствена организација

XOR – ксантин-оксидоредуктаза

1. УВОД

Живот је планетарни феномен, настао у води, чије су компоненте у непрестаном кретању и међусобној интеракцији. Уједно, представља најживотворнију форму кретања материје (односно облик постојања живог бића), најсложенију и најзначајнију појаву природе. Он је уређени систем промета материје и енергије - непрекидни метаболизам (Цветковић, Лакушић, Матић, Кораћ, Јовановић, 2011).

Људска врста, која у изузетно великој мери зависи од осталих живих бића, има релативно нову и малу улогу у читавој феноменологији живота, али велики значај у њеном разумевању; У једном од фундаменталних радова у сазнајном пољу биологије, „О пореклу врста“

(eng. *On the origin of the species*), британски природњак и биолог Чарлс Дарвин (енг. Charles Darwin) поставио је темеље модерне теорије еволуције, која почива на идеји да живот на Земљи није створен *de novo*, већ да се милијардама година развија(о), формирајући читав спектар различитих форми живота, захваљујући непрестаном одвијању неколико изузетно важних биолошких и друштвених процеса.

У обрађивању и изношењу поменуте теорије, аутор је више пута уочавао и указивао на значај једног од најважнијих биолошких фактора антропогенезе, који је назвао *природном селекцијом* (Darwin, 1859). Било да је реч о једноставним - сесилним врстама, или оним далеко сложенијим, попут човека, у бити овог процеса уочава се

на први поглед сасвим једноставна тежња готово сваког организма да се одржи у животу.

Из ње произилази изузетно динамичан однос између организма и његовог биотопа, који му, као ултимативно решење, намеће адаптацију – прилагођавање на услове спољашњег окружења, зарад постизања и очувања равнотеже унутрашњих, физичких и хемијских фактора, односно хомеостазе.

Другим речима, током процеса сопственог развоја, сва жива бића непрекидно су наилазила на разнолике еволутивне изазове који би их, по правилу, константно постављали у положај предатора или плена (Yoshida, 2003). Тековина таквог еволутивног пута огледа се, између осталог и у чињеници да се у готово свим живим бићима, укључујући животиње, биљке и микробе, синтетишу токсини - супстанце које међусобно интерферирају и ометају физиолошке процесе других организама фаворизујући, притом, организам домаћина у суровој борби за лични опстанак. Још у шеснаестом веку, швајцарски лекар и алхемичар Парацелзус веровао је да су „све ствари отровне, и ништа није без отрова“, тј. да је искључиво доза фактор који чини твар отровном или лековитом. Студије о токсинима које су спровођене у деценијама које су уследиле донеле су прегршт нових важних открића. Једно од њих је делом и предмет овог рада, а односи се на улоге азот – монооксида, изразито токсичног гасовитог молекула, важног биолошког гласника, у организму пливача, па и самом систему спортског пливања.

Упркос његовим изузетно токсичним својствима, вертебрате и инвертебрате азот – моноксид синтетишу у својим ћелијама, али га такође користе и за одржавање сопственог здравља, односно живота у ширем смислу.

Поред наведеног, све је више истраживања која потврђују теорију да је NO важан хемодинамички и метаболички регулатор током обављања готово свих облика физичких активности, укључујући пливање, а услед дејстава која остварује на организам у целости, оно има посебну ефикасност у обнављању дисфункција ендотелних ћелија васкуларног система, што је процес који се данас сматра профилаксом атеросклеротских, али и бројних других патофизиолошких процеса у организму савременог човека.

Човеково вековима присутно интересовање за пливање и ефекте које оно на њега остварује (а нарочито на његово здравље), додатно наглашава културолошки, здравствени и сваки други значај који ова физичка активност у савременом животу има.

У складу са наведеним, потреба да се сазнајни простор спортског пливања константно усавршава и шири потпуно је оправдана. С тим у вези, интенције да се прецизно дефинишу место и улога азот - монооксида у систему регулатора пливања, вежбања у води, али и процесу рехабилитације након различитих спортских повреда, све су уочљивије. Наведеним проблемима рад ће се у наставку и бавити.

2. ТЕОРИЈСКИ ОКВИР, ПРЕДМЕТ, ЦИЉ, ЗАДАЦИ И МЕТОДЕ РАДА

2.1. Доктрина наука о кретању пливањем

Резултати научних истраживања која су награђена Нобеловом наградом од великог су значаја за разумевање човекове физичке активности. Иако се додељује од 1901. године, Нобелова награда за медицину и физиологију, додељена Арчибалду Хилу и Оту Мајерхофу (1921), била је прекретница у истраживањима функционисања здравог човека - спортисте, али је, уједно, изместила науку из простора медицинске патологије у простор наука о физичком вежбању, како их називамо данас. Уследили су потом и други истраживачки искораци, који су такође награђени Нобеловим наградама, за резултате истраживања у простору енергетског метаболизма ћелије (Gorgzij, Mezerhof, Krebs (Wilimore, Costil, 2004). Међутим, посебно је интересантна Нобелова награда за медицину и физиологију додељена 1998. године, која се односи на разјашњење улоге азот-моноксида (NO) у функционисању кардиоваскуларног система сисара. Награду су добила тројица истраживача: Robert S. Furchgott, Louis J. Ignaro i Ferid Murad. Резултати овог истраживања и његова примена у наукама о вежбању и спортским наукама, кроз апликативну страну у пливању, предмет су рада.

Пливање, као координисано ритмично кретање људског тела по површини воде, али и културолошки феномен, представља једну од најпопуларнијих физичких активности, која је заступљена широм планете (Hulteen, 2017).

Њиме се, на глобалном нивоу, бави здрава, али и популација изложена различитим здравственим ризико-факторима, обољењима али и коморбидитетима (Conti, 2015).

Другим речима, јавно-здравствени значај пливања одавно је препознат, нарочито захваљујући мултифакторској генези многих обољења, према којој физичка неактивност представља један од кључних фактора ризика, будући да савремени начин живљења у великој мери супримира бављење физичким вежбањем, као једним од фундаменталних стимулуса човековог општег здравља. Постојање читавог спектра механизма путем којих пливање, али и боравак у води *en general*, смањују ризик оболевања од хроничних незаразних болести (укључујући ефекте које остварује на метаболизам липида и липидни профил, функције ендотела, вазодилатацију, коагулацију, осетљивост на инсулин и сл) није непознаница.

Међутим, за њихову превенцију изузетно је значајна и биосинтеза азот - монооксида (Koshland, 1992), сигналног молекула који се синтетише у готово свим ћелијама људског организма и у последњих тридесет година привлачи изузетно велику пажњу у свету науке. Разлог томе делимично је и поседовање важне улоге у преношењу информација како у физиолошким, тако и у патофизиолошким

процесима, те у складу са тим и сазнање да у истом организму може остваривати и токсична и корисна дејства (Calabrese, 2023).

Бројна открића о његовим различитим патофизиолошким улогама оправдавају чињеницу да се азот-моноксид сматра једним од највећих „изненађења“ у биолошкој и координативној хемији, односно да и даље представља изазовно поље испитивања на коме раде истраживачке групе широм света (Прокоповић, 2023).

Ипак, тек га је откриће изузетно важних регулаторних механизма које поседује у организмима сисара, а за које је додељена и поменута Нобелова награда за медицину и физиологију 1998. године, поставило на значајно место у истраживањима у области медицине, али и осталих сродних научних дисциплина, а све чешће спорта и физичког вежбања (Smith, 1998). Овај свеприсутни ћелијски гласник је, због револуције коју је унео у разумевање многих процеса у организму, проглашен 1992. за молекул године, упркос својој једноставној, двоатомној, структури.

Интенције да се прецизно дефинишу место и улога овог молекула у систему регулатора физичке активности, али и процесу рехабилитације након различитих спортских повреда (Filippin, 2009., Bokhari., 2012., Murrell, 2007) све су уочљивије. Међутим, услед специфичности пливања и спортског пливања (али и осталих вежбовних активности које се спроводе у воденој средини), ограничено је емпиријско сазнање о синтези и метаболичкој активности азот - монооксида у његовом профилактичком, терапијском или тренажном значењу.

Стога су теоријска и емпиријска питања улоге NO у пливању, тренингу али и општем здрављу пливача (вежбача) у води проблем рада око кога ће се успоставити когнитивна страна сазнања, која треба да излучи закључке генерисане на основу емпиријских евиденција и најбоље тренажно-такмичарске-вежбовне праксе (условно доктрину наука о кретању пливањем)...

2.2. Циљ рада

- Изучити утицај спортског пливања и вежбања у води на синтезу азот – монооксида и *vice versa*.
- Утврдити правилности и последице предметне интеррелације.
- Генерализовати степен повезаности предметних ентитета.
- Дефинисати улогу NO на искорак тренажне (вежбовне) методике и технологију истраживања у специфичним условима пливања и водене средине.

2.3. Методе рада

У раду ће, првенствено, бити примењен метод теоријске анализе, који ће, кроз аналитичко-синтетички когнитивни ток подразумевати апстракцију, спецификацију и генерализацију релевантних научних чињеница, односно, индуктивни и дедуктивни сазнајни пут који ће се успоставити око теорије, емпирије и афирмисане тренажне-вежбовне праксе.

3. АЗОТ-МОНОКСИД - ИСТРАЖИВАЧКА ДОКТРИНА ПРЕДМЕТА РАДА

3.1. Основне карактеристике моћног аерозагађивача

Азот-моноксид (NO) је безбојан и изразито токсичан гас, са максималном растворљивошћу сличној кисеониковој (Korpenol, 1998). Један је од неколико азотних оксида, а уз то и слободни радикал, што значи да може ступати у реакције са другим слободним радикалима и на тај начин учествовати у стварању нових. Услед могућности ендогене биосинтезе и варијетета биолошког деловања, сматра се паракрином супстанцом од изузетног фармаколошког, физиолошког, али и патофизиолошког интереса.

Као што му и само име казује, његова структура је врло једноставна, будући да је сачињен од једног молекула азота и једног молекула кисеоника. Један је од десет најмањих и најједноставнијих биолошки активних молекула у природи (Vaninni, Kashfi, Nath, 2015), али је такође и свеприсутан у организмима сисара. Са молекулском масом 30, најмањи је ћелијски сигнални медијатор. Спада у релативно ретке молекулске супстанце са непарним бројем електрона, због чега се, као што је на почетку поглавља речено, може сврстати и у групу липофилних слободних радикала², што даље имплицира да може слободно да дифундује и реагује са другим молекулима

² Слободни радикали – јони велике реактивности; нестабилни молекули који улазе у хемијске реакције са угљеним хидратима, липидима и протеинима, при којим доводе до функционалних, биохемијских и структуралних поремећаја (Huber, 1980).

и слободним радикалима, у готово свим деловима система (Mikkelsen, Wardman, 2003).

Управо због непарног броја електрона, када се нађе у течном стању, испољава тежњу ка димеризацији, а будући да поседује слободне електронске парове, понаша се и као лиганд³ (Полети, 2011) изразито јаког лигандног поља. Заједно са сумпор-диоксидом сврстава се у групу изузетно штетних аерозагађивача, будући да се у природи јавља као нуспродукт активности термоелектрана и аутомобилских мотора са унутрашњим сагоревањем, који се сматрају примарним узрочницима киселих киша, и неким од значајнијих агенаса који доприносе уништавању озонског омотача Земље.

Када се отпусти у атмосферу, при реакцији са кисеоником, учествује у формирању азот - диоксида (NO_2). Другим речима, уколико се NO формира у атмосфери, као резултат ће настати смеша NO и NO_2 (која се означава као NO_x) (Butler, Nicholson, 2003); Услед енергетских ограничења, молекули кисеоника и азота при амбијенталној температури не интерагују. Међутим, при високим температурама, подвргавају се ендотермној реакцији при којој настају различити оксиди азота. Поменуте температуре достижу се, као што је раније поменуто, унутар мотора, у ложиштима термоелектрана, али и у природи, приликом настајања грома (Пфендт, 2009).

³ Лиганд - супстанца која може да се веже за централни атом метала и формира комплекс који има биолошку сврху (Cotton, Wilkinson, Murillo, Bochmann 1999).

Са друге стране, однос NO/NO_2 детерминисан је интензитетом сунчеве светлости (која конвертује NO_2 у NO) и концентрацијом озона (који у реакцији са NO поново синтетише NO_2). Када NO_x , у присуству сунчеве светлости, реагује са испарљивим органским једињењима (VOC), формира се фотохемијски смог - сложена смеша хемијских једињења и један од, нажалост, водећих еколошких проблема данашњице, а вероватно и будућности.

Услед деловања претходно објашњеног механизма, деца и одрасли који вежбају напољу, али и оболели од астме и других болести плућа (односно дисајних путева у ширем смислу), посебно су изложени штетним ефектима азот - монооксида, али и осталих молекула са којима он у објашњеном процесу интерагује (Carlisle, Sharp, 2001).

Имајући у виду побројане негативне еколошке и здравствене ефекте које азот - монооксид остварује на човекову околину, деценијама су улагани изузетно велики иницијални напори да се он у извесној мери из ње и потисне. Међутим, открића која су осамдесетих година прошлог века довела у нове сазнајне искорак у области хемије, физиологије и медицине, довела су до запањујућег закључка – да опстанак најдоминантније врсте на Земљи у великој мери зависи управо од његове (био)синтезе.

3.2. Пут од случајног открића до Нобелове награде

У изузетно великом броју публикација које се односе на азот-моноксид у ширем смислу, као централна личност, нарочито када се говори о проналаску и историјском значају овог молекула, превасходно се истиче енглески хемичар и филозоф Џозеф Пристли (eng. Joseph Priestley). Он је, радећи на једном од својих експеримената, уз помоћ којих ће пар година касније открити кисеоник и описати његова својства (али и угљен-моноксид, амонијак и сумпор-диоксид), „сплетом случајних околности“ синтетизовао и азот-моноксид (Gillman, 2019., Marsh&Marsh, 2000., Lancaster, 2020).

Ипак, прве идеје о азот-моноксиду сежу много дубље у прошлост, до 13. века, током ког је први пут описана *aqua fortis*, касније названа „азотна киселина“ (Karpenko, 2009). Савремени метод њеног синтетисања развио је потом Јохан Глаубер (ger. Johann Glauber), док је ван Хелмонт (енг. Jan Baptist van Helmont) запазио и описао појаву да се, приликом интеракције бакра, гвожђа или сребра са азотном киселином, формира врло карактеристичан, тада још увек непознат гас. Убрзо затим, Бојл (енг. Robert Boyle) и Штал (ger. Georg Ernst Stahl) приметили су да је готово увек, када би дошао у контакт са осталим хемијским елементима из атмосфере, тај гас попримао смеђу нијансу (Butler, Nicholson, 2003). Управо је поменуто откриће деценијама касније било полазна тачка изузетно великом броју истраживача.

Другим речима, Пристлијев целокупни рад на проблематици азот-моноксида, који се у ширем смислу посматра као изузетно значајан допринос науци, био је тек круна свих дотадашњих сазнања која су, заједно са његовим истраживањима, допринела да овај молекул завреди статус засебног хемијског ентитета, који се, како ће се тек показати, од других гасова и ентитета умногоме значајно разликује. У току процеса прикупљања знања о азот-моноксиду, издвојио је три тезе које завређују посебну пажњу;

- Азот - моноксид временом, уколико се налази у присуству воде и гвожђа, смањује своју запремину (што је врло вероватно последица његове термодинамичке нестабилности).
- када NO реагује са кисеоником у атмосфери, у волуметријској анализи ваздуха запажа се формирање хидросолубилног гаса.
- Уколико азот - моноксид реагује са фери - сулфатом, добија се раствор нитрозила гвожђа.

Упркос свему наведеном, сам ипак није успео да уочи и издвоји хемијске елементе који изграђују азот-моноксид. Поменуто је учинио тек Хенри Кевендиш (eng. Henry Cavendish), на чије се истраживање убрзо надовезао Хамфри Дејви (eng. Sir Humphry Davy), коначно доказавши диатомску природу овог једињења – један атом азота повезан са једним атомом кисеоника. Током наредна два века, азот – моноксид сматран је високо токсичним једињењем, будући да је случајно или намерно удисање овог једињења изузетно велики број хемичара водило ка леталном исходу.

Имајући поменуто у виду, готово нико још увек није могао ни претпоставити да ће мале количине овог наизглед смртоносног агенса у организму биљака, животиња, а нарочито човека, имати једну од кључних улога. Такве инсинуације појавиле су се тек током 19. века, када је италијански хемичар Асканио Собреро (eng. Ascanio Sobrero), користећи азот-моноксид синтетизовао нитроглицерин, који је потом Алфред Нобел (eng. Alfred Nobel) дуго користио у индустријске сврхе у својој фабрици динамита. У њој су, су крајем шездесетих година уочене две, у датом тренутку, прилично интригантне појаве; прва, да су радници у фабрици током радне недеље осећали јаке главобоље које би током викенда престајале, а друга да су се радници оболели од ангине пекторис (међу којима и сам Нобел) осећали знатно боље током радне недеље, док се бол у грудима поново јављао викендима, када нису били изложени поменутој супстанци (Marsh, 2000).

Упркос свему, одговор на питање шта тачно доводи до оваквог механизма деловања нитроглицерина морао је да сачека готово пуних 150 година, док 1979. године азот - моноксид није убачен у посуду са преконтрахованим говеђим коронарним артеријама. Поменуто испитивање довело је до закључка да је управо NO кључни фактор, односно агенс који остварује релаксирајуће дејство на глатко мишићно ткиво од ког су зидови крвних судова изграђени (Gruetter, Barry, McNamara, Kadowitz, Ignarro, 1979).

Убрзо потом, биохемичар и универзитетски професор Роберт Ферчгот (eng. Robert Furchgott) доказао је да је за наведени ефекат поменуте супстанце неопходно присуство ендотелијалних ћелија,

у чијим рецепторима најстарији познати неуротрансмитер, ацетилхолин, стимулише ослобађање тада непознатог сигналног молекула, који потом доводи до релаксације глатких мишића крвних судова (Furchgott, Zawadski, 1980). Нови сигнални молекул испрва је назван „релаксирајући фактор пореклом из ендотела“ (EDRF). Готово десет година након његовог открића, Палмер и Игнаро (eng. Palmer, Ignarro), независно један од другог, успели су да докажу да је поменути сигнални молекул, заправо, азот - моноксид (Palmer, Ferrige, Moncada, 1987., Ignarro, Buga, Wood, Byrns, Chaudhuri, 1987). Ослањајући се на претходно познате хипотезе, Салвадор Монкада убрзо је показао да је основни супстрат за синтезу NO аминокиселина, L-аргинин (Palmer, Ashton, Moncada, 1988). Овим открићем, сматра се, отпочиње „нова ера“ многих научних дисциплина.

Сва поменута, али и бројна друга истраживања која су њима иницирана, допринела су да 1992. године, према часопису „*Science*“, азот-моноксид буде проглашен „молекулом године“ (Koshland, 1992).

Шест годна касније, 12.10.1998. године, захваљујући научном доприносу који су заједничким радом и открићима дали, доказавши да је азот - моноксид изузетно важан сигнални молекул кардиоваскуларног система сисара, Роберт Ферчгот, Луис Игнаро и Ферид Мурад (eng. Robert F. Furchgott, Louis Ignarro, Ferid Murad) постали су лауреати најпрестижнијег признања у научно-истраживачком свету – Нобелове награде, за откриће у области физиологије и медицине (Smith, 1998). Награђеним радом је, по први пут, доказано да молекул у гасовитом стању може бити важан

биолошки гласник у организму сисара. Поменуто откриће било је запањујуће, будући да је поменути гас, као што је већ поменуто, одавно препознат као један од најзначајнијих аерозагађивача.

Студије које су се, у годинама које су предстојале, бавиле азот-моноксидом, а које су биле изузетно бројне захваљујући публицитету који је убрзо добио, само су потврдиле да је молекул NO од круцијалног значаја у кардиоваскуларном систему човека (Guyton, 2000), док је др Салвадор Монкада (eng. Salvador Moncada) 1999. препознат као најцитиранији британски научник деценије, захваљујући вишегодишњој посвећености и преданости у раду који се односи на проблематику NO у ширем смислу.

До почетка 21. века, азот-моноксид је успео да продре до свих пора медицине. Захваљујући томе, врло је брзо препознат у етиопатогенези најразличитијих типова обољења.

Данас, готово 25 година након поменутих открића, изузетно је тешко издвојити обољење или активности организма који, макар и у минималној могућој мери, нису повезани са варијацијама у домену механизма биосинтезе азот - монооксида.

3.3. Биосинтеза и (ин)активација азот-монооксида у организму човека

Као што је у претходним поглављима већ поменуто, азот - моноксид може настати као производ реакције између кисеоника и азота при изразито високим температурама, али и у лабораторијским условима, интеракцијом оствареном између азотне киселине и бакра. Ипак, иако поменута тврдња није новост, ни један ни други пут настанка вековима нису упућивали на идеју да се овај молекул природно синтетише и унутар ћелија људског тела. Тек је откриће с краја 20. века, које се односи на молекуларну масу азот - монооксида, професора Салвадора Монкаде (eng. Salvador Moncada) и његових сарадника (Moncada, Palmer, Higgs, 1991), био један од првих директних доказа да би азот - моноксид потенцијално могао настајати и из различитих супстрата у човековом организму.

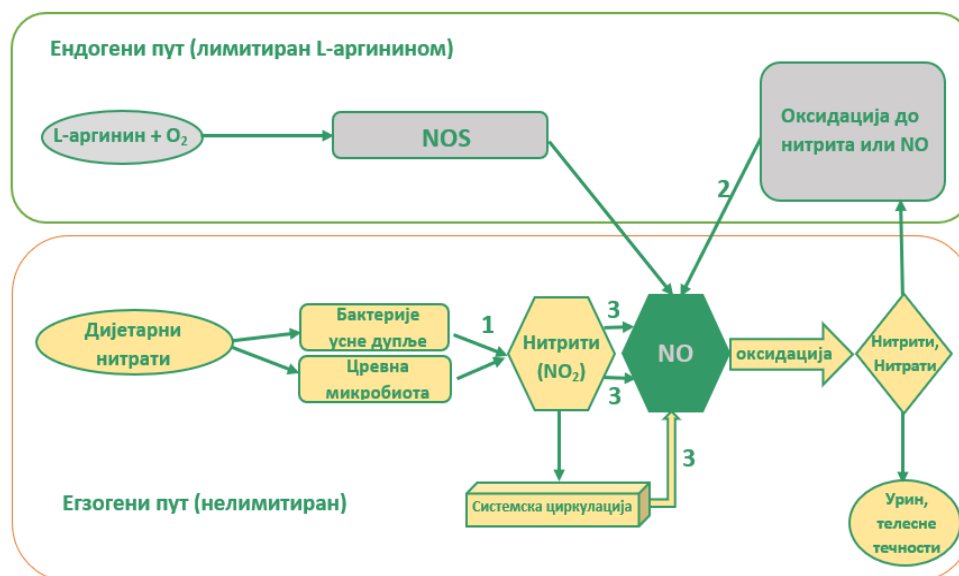
Азот - моноксид је први сигнални молекул у гасовитом стању који је инволвиран у читав спектар физиолошких и патофизиолошких процеса у организму сисара. Најмањи је ћелијски сигнални молекул. Изузетно је нестабилан и брзо се разграђује до стабилних продуката. Приметно је да му се и у актуелним публикацијама неретко приписују различите, често поприлично интигантне улоге, будући да изазива читаве варијетете реакција, у зависности од окружења у ком се налази, концентрације самог гаса, али и модела на којима се испитивања изводе.

Иако је о најосновнијим хемијским карактеристикама азот-моноксида већ је било речи у претходном поглављу, значајно је истаћи још и да је, услед поменуте нестабилности, полуживот овог молекула изузетно кратак и износи око 30-60 секунди. Ипак, *in vivo* може формирати S-нитрозо спојеве, захваљујући чему у крви циркулише у виду S-нитрозо албумина, што његову биолошку активност продужава на 1-2 минута, односно око 4 минута у воденој средини (Lincoln et al., 1997). За разлику од већине сигналних молекула, који делују искључиво путем везивања за одређени рецептор, азот - моноксид делује путем низа биохемијских реакција. Оне су, као што је раније и поменуто, условљене концентрацијом NO, али и саставом ћелије модела и његовог окружења (Wink, 1996).

У самој сржи процеса биосинтезе азот-моноксида налазе се ензими, сложени високо селективни протеини који, под јасно детерминисаним условима (неутрална рН вредност и оптимална телесна температура), природне супстанце – супстрате (у овом случају азот, који се добија из условно есенцијалне аминокиселине аргинина, и кисеоник) конвертују у азот - моноксид. Група ензима која је круцијална за синтетисање овог молекула назива се азот - моноксид синтаза (NOS) и о њој ће у наставку рада бити више речи.

У сваком од око 200 типова ћелија у човековом телу може се уочити присуство азот - моноксида, који може бити ендогеног или егзогеног порекла.

Ендогени азот-моноксид је изузетно важан медијатор ендогених процеса, нарочито оних који се односе на интестинални мотилитет и мукозну пермеабилност (Izzo, Mascolo, Maiolino, Capasso, 1996). Може настати превасходно у неензимским и ензимским реакцијама. Неензимски азот моноксид настаје у киселим срединама из нитрита. Са друге стране, ензимски пут синтезе, као што је више пута у раду поменуто, подразумева дејство групе ензима азот - моноксид-синтазе (NOS) (Eiserich, Patel, O'Donnell, 1998). Егзогени извори азот-моноксида присутни су у ваздуху, као загађивачи (о којима је у претходном поглављу било више речи), али у ову групу извора спадају и NO донори који се користе у терапијске и истраживачке сврхе. Примарни путеви настајања азот – моноксида приказани су на Слици 1.



Слика 1. Ендогени и егзогени пут синтезе азот – моноксида

До сада су, као што је приказано на слици 2, изоловане четири различите изоформне групе ензима, сачињене од великих и комплексних полипептидних хомодимера⁴:

- Нервна / неуронска конститутивна (nNOS / тип I),
- индуцибилна (iNOS / тип II),
- ендотелна конститутивна (eNOS / тип III) и
- бактеријска (bNOS), недовољно истражена.

Назив	Локалитет	Функција
Неуронска NOS (nNOS)	• Нервно ткиво • скелетни мишићи	– синаптички пластицитет – релаксација глатких мишића – вазодилатација путем периферних нитрергичких нерава
Индучибилна NOS (iNOS)	• имуни систем • кардиоваскуларни систем	– одбрана имуног система од патогена
Ендотелијална NOS (eNOS)	• ендотелијум	– вазодилатација
Бактеријска NOS (bNOS)	• Грам – позитивне бактерије	– Антиоксидативна заштита – Одбрана од антибиотика и напада на имуни систем

Слика 2. Типови, локализације и функције азот – монооксид синтаза

Неуронска NOS и ендотелијална NOS експримирају се конституционално, док је индуцибилна NOS индукована интерлеукинима – инфламаторним цитокинима, односно експримира

⁴ Хомодимер – макромолекуларни комплекс формиран од два идентична нековалентно везана молекула.

се искључиво током ћелијске активације и није присутна у ћелији која мирује.

Све наведене изоформе као ендогени супстрат за синтезу NO *sine qua non* користе изомер једне од условно есенцијалних аминокиселина, L-аргинин (Billiar, Cirino, Fulton, Motterlini, Papapetropoulos, Szabo, 2019), који је у високим концентрацијама присутан у крви, екстрацелуларној течности, али и унутар саме ћелије (Bruckdorfer, 2005).

Другим речима, у организму сисара, азот-моноксид настаје каталитичком активношћу групе поменутих ензима, азот моноксид-синтазе (NOS), која катализује оксидацију, односно конвертује L-аргинин у NO и L-цитрулин (Alderton, 2001), уз помоћ O₂ и NADPH. Електрони из NADPH ступају у редуктазу уз помоћ два кофактора, од којих први чине FAD и FMN, а затим и у процес оксигеназе, који захтева везивање калмодулина (CaM) за средишњи део ензима (Stuehr, 1997). Њихово крајње одредиште је хем гвожђа, редукован у процесу оксигеназе, чиме је омогућено везивање кисеоника ради отпочињања синтезе NO. Други кофактор је тетрахидробиоптерин (BH₄), који делује као редуктор у оксигенази, а затим и као оксидант у каталитичком циклусу, током двостепене оксидације L-аргинина (Stuehr, Haque, 2019).

Наведени процеси, односно путеви синтезе са својим кофакторима, приказани су на слици 3.



Слика 3. Пuteви синтезе, кофактори и улоге NO у организму човека

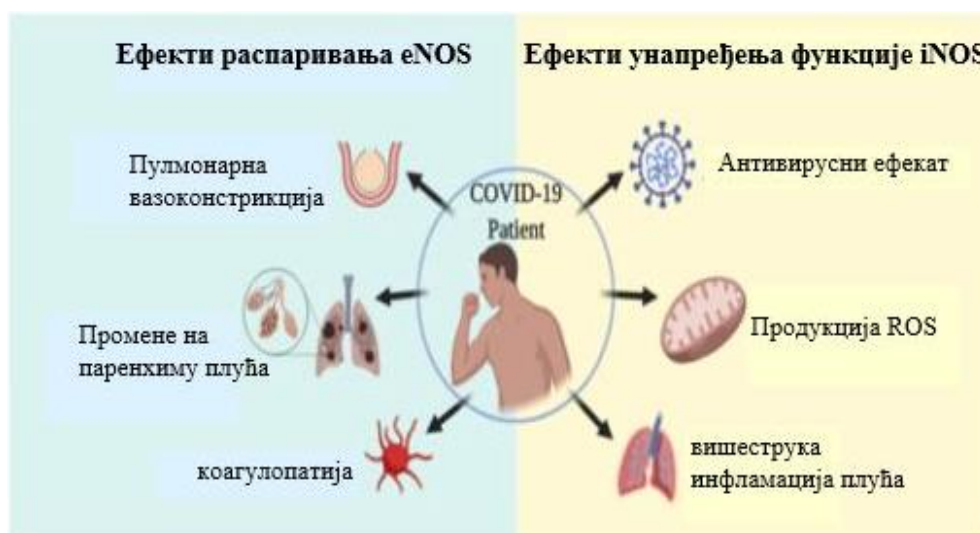
Минимум три гена доказано учествују у кодирању различитих типова азот-моноксид синтазе (Nathan, 1992). Изоформе NOS синтетишу се као мономери, али је за потребе катализовања реакције синтезе NO круцијално формирање хомодимера, уз присуство појединих кофактора;

Мономерни облик NOS не може да веже супстрат и тетрахидробиоптерин⁵ (BH₄, THB) као кофактор, те стога NO ствара супероксидни анјон (O₂⁻) (Förstermann, Sessa 2012., Zhao et al. 2015).

Поменути процес назива се „NOS раздвајање/распаривање“ (eng. *uncoupling*) и основна је карактеристика читавог спектра опструкција и обољења који нападају човеков кардиоваскуларни и респираторни систем (Daiber et al, 2019).

⁵ Тетрахидробиоптерин – природни есенцијални кофактор за NOS

Такође, ефекти распаривања, али и појачане активности iNOS примећени су и код пацијената оболелих од вируса COVID-19 (Guimarães, Rossini, Lameu, 2021), као што је приказано на слици 4.



слика 4. Ефекти распаривања eNOS и унапређене функције iNOS
(модиф. према Guimarães et al., 2021)

На основу наведеног, може се закључити да је димеризација ензима знатно значајнија за синтезу азот-моноксида, него што је то само присуство ензимских протеина у ћелији.

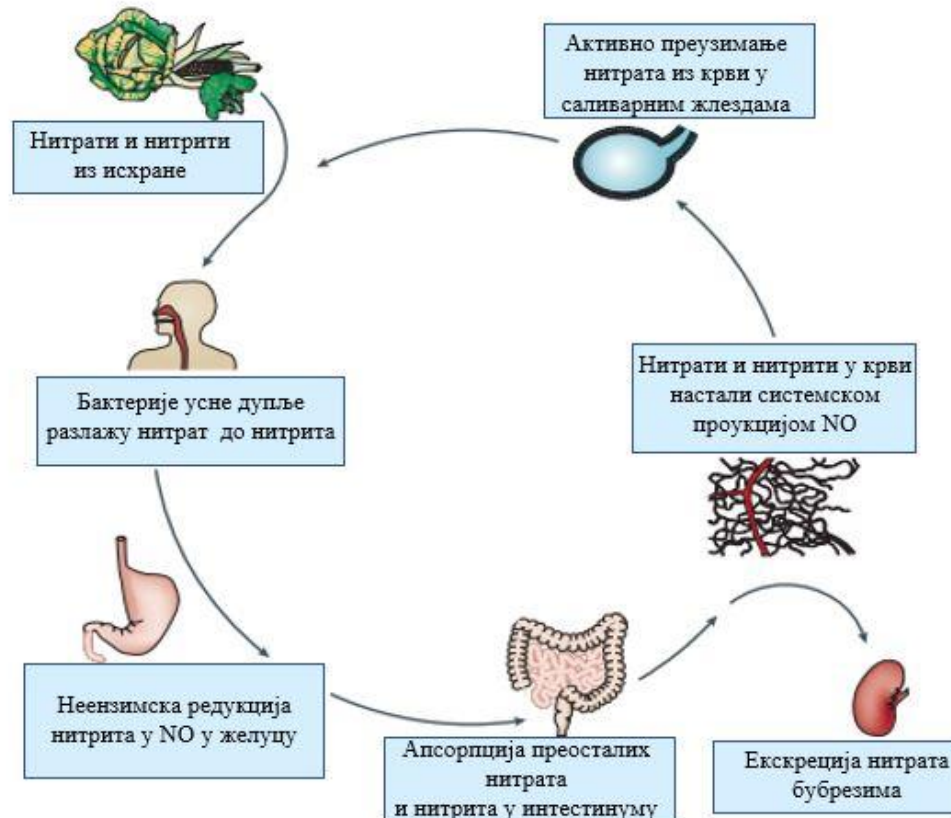
За разлику од nNOS и eNOS које продукују мале количине NO, једном индукована iNOS продукује знатно веће, микромоларне количине (Hewett, Muir, Lobner, Symons, Choi, 1996). Ипак, како би било која од изоформи NOS имала каталитичку активност, неопходно је, као што је током овог поглавља већ назначено, да се ензим веже за

калмодулин⁶ (CaM). До ове интеракције између CaM и pNOS или eNOS долази након повећања интрацелуларне концентрације Ca^{2+} , док се за iNOS везује високим афинитетом и без присуства Ca, због разлике у аминокиселинској структури места везивања (Förstermann, Sessa 2012).

Активност NOS контролисана је негативном повратном спрегом са NO (Alderton, Cooper, Knowles, 2001). Оксидација азот – монооксида у неоргански нитрат (NO_3) и нитрит (NO_2^-) главни је пут брзе инактивације поменутог, изузетно потентног, биолошког гласника (Qin et al, 2012). Веома дуго, поменути анјони сматрани су молекулима од великог биолошког интереса, услед чињенице да представљају нуспродукте процеса оксидације NO. Ипак, средином деведесетих година, истраживања су показала да се ради о двосмерном процесу, односно да нитрати и нитрити могу поново редуковати до азот – монооксида (Benjamin, 1994, Zweier, 1995).

Иницијални корак у биоактивацији NO_3 зависан је од бактерија усне дупље, као и цревних микробиота; циркулишући нитрат преузимају саливарне жлезде (Qin et al, 2012), док га комензалне бактерије усне дупље редукују и на тај начин формирају реактивније нитрите (Duncan et al, 1995). Они затим пролазе кроз процес гутања, те учествују у стварању азот -монооксида и других реактивних оксида азота у крви и ткивима (слика 5).

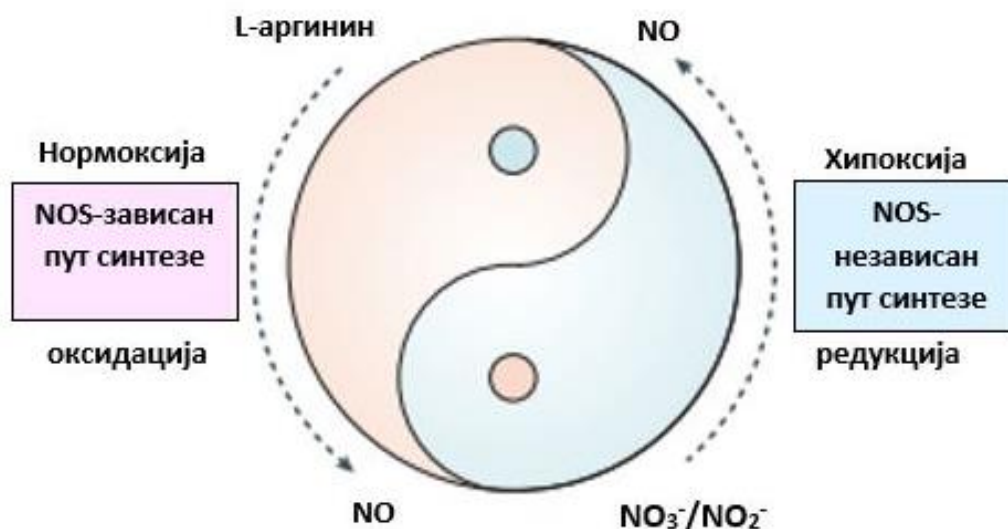
⁶ Калмодулин – калцијум-везујући протеин у еукариотама; посредује у процесима инфламације, апоптозе, контракције глатких мишића и сл.



слика 5. ентеро-саливарна циркулација нитрата у људском организму
(модиф. према Lundberg et al, 2008)

Ензимски и неензимски механизми, захваљујући којима се остварује поменути процес, су бројни (Lundberg, Weitzberg, Gladwin, 2008), а интересно је и да се сви они убрзавају у киселој средини и условима хипоксије (слика 6).

Другим речима, пут „нитрат – нитрит – NO“ може се сматрати „резервним системом“ за синтезу азот – монооксида, у условима када је NOS пут настајања, из било ког разлога, дисфункционалан.



Слика 6. Ензимски и неензимски пут синтезе азот – монооксида
(модиф. према: Lundberg et al, 2008)

С обзиром на претходно наведено, а имајући у виду да су нитрати и нитрити саставни део свакодневне човекове исхране, поставља се питање колики утицај исхрана и дијететика остварују на поменућу осовину и описане путеве, нарочито у организму спортисте – пливача, имајући у виду специфичности спортске гране.

О поменутом ће, у наставку рада, бити више речи.

3.4. Дистрибуција и транспорт – Ка доктрини физиологије кретања пливањем

Ендотелна азот-моноксид синтаза, као што јој име и говори, експримирана је примарно у ендотелним ћелијама и представља главни изоформ NOS одговоран за регулацију функција кардиоваскуларног система. Осим у ендотелу, примећена је и у тромбоцитима, кардиомиоцитима, појединим неуронима и синциотиотрофобластима плаценте (Förstermann, Sessa 2012). Њена активност, а у складу са тим и синтеза NO, регулисана је различитим физичким, хемијским и хуморалним факторима (Zhao, 2015).

Неурална NOS експримирана је првенствено у централном и периферном нервном систему (мозгу, кичменој мождини, симпатичким ганглијама), али је њено присуство примећено и у срчаним, скелетним и глатким мишићним ћелијама, ћелијама ендотела и слично (Förstermann, Sessa 2012., Zhao et al. 2015). Дејством ове изоформе настаје NO који има улогу у регулисању процеса учења и памћења, као и дуготрајној регулацији синаптичке трансмисије, а истраживања доказују да је укључен и у регулацију крвног притиска (Förstermann, 2012; Sakuma et al, 1992). Азот-моноксид ослобођен из нитергичких неурона утиче на тонус глатких мишића бројних органа које та влакна инервишу, укључујући и крвне судове, тако што тај тонус смањује (Förstermann, Sessa, 2012). Такође, nNOS учествује у локалној регулацији васкуларног тонуса, независно од централног нервног система, а ниски нивои nNOS у глатким мишићним ћелијама васкуларног система, могу, у ситуацијама дисфункције eNOS,

да одржавају оптимални ниво вазодилатације (Schwartz, Kleinert, Förstermann, 1999; Melikian, Seddon, Casadei, Chowienczyk, Shah, 2009).

Индуцибилна NOS је најмање експримирана у ћелијама у физиолошким условима, а до индуковања њене експресије обично долази током различитих типова инфекција, хроничне инфламације, али и у присуству тумора (Zhao et al, 2015).

Иако у живим организмима азот - моноксид може деловати одмах, на месту иницијације његове синтезе, он такође може дифундовати кроз мембранске баријере и тако деловати и на удаљеније структуре у организму (Moroz, Kohn, 2011), што често и чини. Другим речима, једна од најважнијих карактеристика азот-монооксида је његова мала димензија, која му омогућава да веома брзо дифундује из система у ком се превасходно синтетише, до места којима је потребан, најчешће до ћелија глатких мишића васкулатуре.

Чињеница да се интеракцијом азот-монооксида и оксигемоглобина, са консекутивним формирањем метхемоглобина и нитрата, елиминише или инаktivира NO није новост (Wennmalm, Benthin, Edlund, et al., 1993). Напротив, постоји низ радова који документују интеракцију између азот -монооксида и хемоглобина, сугеришући да Hb може функционисати и као NO транспортер (Jia, Bonaventura, Stamler, 1996., Gow, 1998);

Наиме, азот - моноксид произведен у васкулатури реагује са хемоглобином и формира S-нитрозно једињење, које остварује вазодилатационо дејство.

Хемоглобин је глобуларни металопротеин сложене структуре, сачињен од четири протеинске подјединице, од којих се свака састоји од протеинског ланца, везаног за простетичку хем групу. Она се састоји од атома гвожђа, смештеног у центру, као и хетероцикличног порфириног прстена (Gell, 2018). Порфирински прстен заузима четири координациона места гвожђа, док пето заузима хистидински остатак протеина. Када дође до кидања везе између хистидина и гвожђа, за поменуто шесто место везује се азот – моноксид.

На тај начин, у артеријској крви услед реакције NO и оксихемоглобина долази до формирања нитрата и метхемоглобина. Сматра се да се највећа количина азот – монооксида конвертује у нитрате, чија се концентрација може одредити у плазми и сматра се мером продукције NO у организму. У венској крви, са друге стране, формира се нитрозил – хемоглобин (HbNO) (Muller, Kleschyov, Alencar, Vanin, Stoclet, 2002). Највећи део азот - монооксида који се налази у циркулацији ступа у хемијске реакције са хемоглобином. С тим у вези, важно је нагласити да азот - моноксид има и важну функцију у метаболизму гвожђа (Солдатовић, Бугарчић, 2011). Доказано је да NO иницира ослобађање гвожђа из феритина у *in vivo* и *in vitro* условима (Pantopoulos, Hentze, 1995). Поред тога, детаљно су проучаване и реакције везивања кисеоника у хемопротеинима, који су одговорни за транспорт и складиштење кисеоника, као што су хемоглобин и миоглобин (Ilyakina, Poddel'sky, Cherkasov, Abakumov, 2012).

Убрзо након формирања HbNO долази до алостеричке транзиције Hb која, у алвеоларним капиларама, може да фаворизује пренос NO са хема на β -93-цистеин, формирајући S-нитрозоцистеин (Gladwin et al, 2000). Поред њега, у крви је у извесној мери присутан и S-нитрозоалбумин, који се такође може понашати као NO транспортер (Stamler, Jaraki, Osborne et al., 1992) и вазодилататор. Захваљујући поменутиим механизмима, у највећем броју случајева, врши се транспорт азот – монооксида кроз читав систем.

4. (ПАТО)ФИЗИОЛОШКЕ ФУНКЦИЈЕ АЗОТ – МОНОКСИДА У ОРГАНИЗМУ ЧОВЕКА

О улогама азот-монооксида већ је, спорадично, било речи на претходним странама. Ипак, имајући у виду здравствене бенефите овог молекула, од великог значаја је додатно истаћи његове најзначајније физиолошке и патофизиолошке функције, како за људску популацију у ширем, тако и за спортисту – пливача у ужем смислу;

Азот – моноксид је молекул који спречава адхезију тромбоцита и леукоцита за ендотел крвних судова, инхибира агрегацију тромбоцита и изазива дисоцијацију оних крвних ћелија које су ипак агрегирале (Radomski, Zakar, Salas, 1996). Његов дефицит изазива убрзану атерогенезу у анималним организмима (Cayatte, Palacino, Horten, Cohen, 1994; Huang Z, Huang PL, Ma, Meng, Ayata, Fishman, Moskowitz, 1996) док, са друге стране, велике концентрације NO инхибирају пролиферацију глатких мишићних ћелија и могу индуковати апоптозу (Chung, Pae, Choi, Billiar, Kim, 2001., Guyton, 2000), односно могу испољити токсичне ефекте. Своја токсична својства азот-моноксид испољава иницирањем различитих хроничних инфламаторних обољења, аутоимуних болести и томе слично (Moncada, Palmer, Higgs, 1991., Loscalzo, Welch, 1995., Hierholzer et al., 1998). Такође, у току постоперативног процеса, након трансплантације различитих органа (а наведено се нарочито односи на трансплантацију бубрега), у случајевима у којима је дошло до процеса одбацивања трансплантата,

уочена је значајно повећана концентрација NO (Ioannidis, Hellinger, Dehmlow, Rauen, Erhard, Eigler, De Groot, 1995).

Главним извором овог молекула у поменутом процесу сматрају се макрофаги одбачених органа, активирани цитокинима (Worall et al., 1996). Ову теорију додатно поткрепљује и чињеница да се могућност одбацивања органа смањује третирањем органа инхибиторима iNOS (Roza, Cooper, Pieper, 2000). Резултати студија спроведених на лабораторијским животињама указују на то да азот - моноксид такође има улогу и у појединим типовима и фазама процеса учења, као што је случај са просторним учењем (Hölscher, McGlinchey, Anwyl, Rowan, 1996), битним аспектом обуке спортског пливања.

Поред профилаксе, азот – моноксид има значајно место и улогу и у куративи; Лечење органским нитратима, укључујући нитроглицерин, у клиничкој пракси се користи више од 150 година, много дуже од сазнања да је NO у организму сисара сигнални молекул. Овакве супстанце остварују своје дејство кроз повећање биоактивности азот – монооксида и синтетисања cGMP, што позитивно утиче на смањење оптерећења срца и ширење крвних судова, чиме се ублажава *Angina pectoris* (Lundberg, Weitzberg, Gladwin, 2008).

Удисање азот – монооксида у гасовитом стању одобрено је за клиничку употребу код новорођенчади са респираторним дистрес синдромом и плућном хипертензијом (Peliowski, 2012). Када се користи на поменути начин, овај молекул остварује своју „двоструку селективност“, што значи да, будући да се примењује путем инхалације, дилатира само

судове који снабдевају добро проветрене делове плућа, што даље доприноси уравнотежености односа плућне вентилације и перфузије. Такође, услед брзог уклањања азот – монооксида из крви, системска вазодилатација је минимизирана.

Поменуто једињење има све већу примену и у офталмологији, будући да је недавно одобрена употреба низа лекова за локалну употребу, на бази нитрата, који се користе за лечење глаукома. Поменутом су знатно допринели резултати студије која је показала да NO у поменутим фармаколошким средствима у већој мери побољшава дренажу *humor aqueus* и тако повећава укупну ефикасност самог лека (Mao, Wu, Yang, Zhang, Huang, 2020). Бројна стања и обољења, као и улога NO у њиховом третирању, приказани су на слици 7.

Симптом / стање	лечење
 Angina Pectoris	органски нитрати
 Плућна хипертензија код одојчади	инхалација гасом NO
 глауком	хибридни NO донор
 астма	издисање NO
 инфаркт миокарда	стимулатори sCG
 плућна артеријска хипертензија	стимулатори sCG инхибитори PDE

слика 7. Значај NO у лечењу различитих обољења
(модиф. према Lundberg, 2008)

4.1. Методе мерења концентрације азот - монооксида

Кратак полуживот азот – монооксида, у садејству са мноштвом различитих локалитета у којима се он потенцијално може синтетисати, у многе су отежали директну процену производње NO у матичном локалитету - у ендотелу (Vallance, Patton, Bhagat, MacAllister, Radomski, Moncada, Malinski, 1995). Међутим, NO биоесеј, који је зависан од вазодилаторног ефекта NO, постао је готово „златни стандард“ међу тестовима који се користе за испитивање функције ендотела *in vivo*. Дуго времена након што је Валенс развио овај метод, интрабрахијална и коронарна инфузија локално активних инхибитора eNOS, као што је L-NAME, коришћене су за испитивање базалне биоактивности NO у мишићима, али и улоге NO у хиперимији изазваној физичким вежбањем. Мање инвазивна метода – FMD метода, обухвата директно праћење дилатације великих артерија изазване кратким периодом исхемије екстремитета (Celermajer, Sorensen, Gooch, 1992). Недуго затим, Доплерова ултрасонографија високе резолуције постала је најчешћа метода за директну визуализацију и мерење артеријског пречника и протока крви кроз артерије човека (Radegran, 1997). Предности ове методе су њена неинвазивност, чињеница да обезбеђује апсолутне мере протока крви, значајно олакшава мерење у условима вежбања, а такође је и мање под утицајем покрета у односу на плетизмографију (Green, Cheetam, Reed, Dembo, O'Driscoll, 2002).

У последње време, најчешће се користе колориметријски и електрохемијски метод, метод хемилуминосценције, флуоресценције, метод гасне хроматографије, EPR (*Electron paramagnetic resonance*) и MRI метод (Goshi, Zhou, He, 2019). Све наведене *in vivo* и *in vitro* методе, поред својих предности, поседују и извесна ограничења. У публикацијама прегледим за потребе писања овог рада, аутори су се користили готово свим поменутих методама.

5. МЕХАНИЗМИ ДЕЛОВАЊА – Ка доктрини наука о здрављу кретањем - пливањем

У људском организму, азот - моноксид се, захваљујући својим физичким својствима, слободно креће све док се „не судари“, односно не ступи у хемијску реакцију са неким од циљаних молекула (Lancaster, 1994., Chen, Keshive, Deen, 1998). Другим речима, готово све компоненте једне ћелије могу бити „потенцијалне мете“ азот - монооксида.

Два најзначајнија физичка својства азот-монооксида су његова растворљивост / испарљивост и његова дифузибилност, од којих уједно зависи и његова концентрација у посматраним локалитетима. Разумевање ових својстава изузетно је важно за разумевање његовог биолошког деловања. Молекуларни механизми његовог деловања врло су сложени и, будући да нису предмет овог рада, о њима је довољно истаћи да се њихови ефекти могу поделити на директне и индиректне (Wink, Mitchell, 1998).

Директни се односе на реакције у којима NO непосредно реагује са циљним молекулима и подразумевају физиолошке аспекте метаболизма ћелије. Индиректно деловање, са друге стране, односи се на редокс трансформацију и настанак реактивних азотних врста (RNS), самим тим и нитрозативног стреса, и подразумева патофизиолошке активности ћелијског метаболизма (Wink, Mitchell, 1998., Brown, Borutaite, 2002).

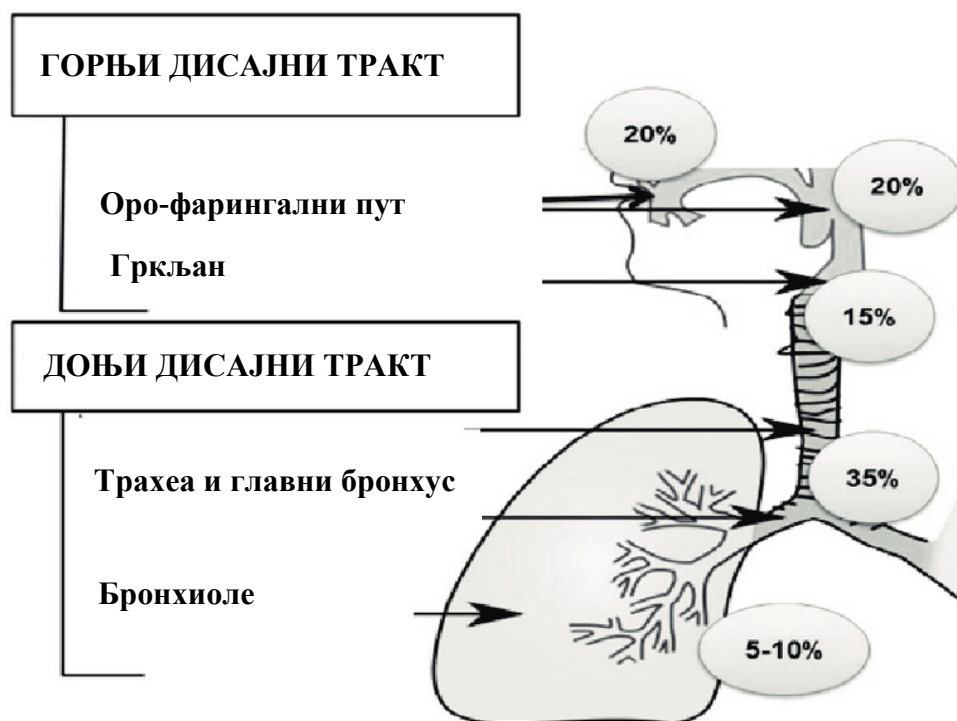
5.1. Синтеза и улоге у респираторном систему

Као што је случај и на нивоу читавог човековог организма, у његовом респираторном систему азот-моноксид има значајне и многобројне улоге. Пре свега, он даје значајан допринос у регулацији тонуса глатких мишића бронхија, васкулатуре плућа и плућног крвотока, функције сурфактанта, али и процеса попут антиоксидативне хомеостазе, локалне одбране домаћина, развоја плућа и сл. (Antosova et al, 2017). Неке од побројаних функција истакнуте су на слици 8.

ФИЗИОЛОШКЕ УЛОГЕ	ПАТОФИЗИОЛОШКЕ УЛОГЕ
Антиинфламаторни ефекат	Проинфламаторни ефекат
Неуротрансмисија	Бронхијална хиперреактивност
Бронходилатација	Вазодилатација
Продукција сурфактанта	Продукција слободних радикала
Секреција мукуса	Хиперсекреција мукуса
Стимулација цилијарног мотилитета	Инхибиција цилијарног мотилитета

Слика 8. Основни ефекти NO у респираторном систему
(модиф. према Antosova, 2012)

Сваки тип ћелија, од најмање 40 различитих типова који учествују у изградњи респираторног система човека, има способност да произведе NO синтезом једне или више врста азот - моноксид синтазе. Локалитети у респираторном систему у којима се оне доминантно синтетишу приказани су на слици 9.



Слика 9. Локалитети синтезе NO у респираторном систему
(модиф. према Antosova et al, 2012)

Регулација бронхомоторног тонуса је сложен физиолошки процес, првенствено заснован на активности аутономног нервног система. Поред тога, на тонус бронхија утичу и бројни хуморални фактори, а улога NO у овом процесу, изучавана током протеклих четрдесет година, испоставила се као велика; Све познате изоформе NOS локализоване у респираторном систему учествују у његовој регулацији синтезом NO. Било каква промена у њиховој функцији може водити у модулацију нивоа NO унутар система и на тај начин допринети патогенези различитих респираторних болести (Antosova et al. 2012, Kopincova, Calkovska, 2016).

Велики број студија спроведених на узорку из дечије, али и популације одраслих, показао је да су уочене статистички значајно веће вредности јачине респираторних мишића код деце и одраслих који су се бавили пливањем, у односу на друге облике физичких активности. Исти тренд уочен је и на узорку спортиста који се баве спортовима ван воде, након имплементације пливања у тренажни програм – јачина инспираторних мишића повећала се за 35.9%, а јачина експираторних мишића за 30.1% (Karaula, Homolak, Perzel, 2022). Истраживања такође показују да се бенефити пливања увећавају што се особа дуже бави пливањем, као обликом редовне рекреативне физичке активности (Cumming, 2017). Због свега наведеног, пливање се често препоручује оболелима од поменутих хроничних респираторних обољења, али и других дегенеративних стања код којих је одржавање или изградња снаге респираторних мишића од изузетног значаја.

Улога NO у механизму контроле плућне циркулације проучавана је најразличитим методама, од инхибиције NOS фармаколошким средствима, до употребе лабораторијских животиња у „нокаут“ експериментима, за проучавање сваке од препознатих изоформи NOS (Moncada, Higgs, 2006). Најактуелнија истраживања на ову тему посебно наглашавају важност NO у хипоксији (Dias-Junior et al., 2008), честом стању у тренажном и такмичарском систему спортског пливања.

Постоји неколико теорија о механизмима вазодилатације у стању хипоксије током пливања, посредоване азот-моноксидом (Dweik, 2001).

Једна од њих ослања се на чињеницу да NO повећава активност растворљиве гванилил-циклазе (сGC⁷), највероватније услед интеракције са хемом у њој (Murad, 1994). Поменути ензим катализује синтезу цикличног гуанозин-монофосфата (сGMP⁸) конвертујући гуанозин-трифосфат (GTP) у сGMP. Као резултат наведеног, концентрација Ca²⁺ се смањује, а самим тим и осетљивост глатких мишића на њега (Hampl 1995). Другим речима, вазодилатација посредована NO инхибира супстанце које онемогућавају стварање сGMP.

У студијама спроведеним на лабораторијским животињама, у случајевима када су оне увођење у стање хипоксије, на које плућна васкулатура одговара вазоконстрикцијом, плућна хипертензија била је знатно већа него у контролним групама. Ослобађање eNOS, односно самог NO, у великој мери је смањено код хроничне хипоксије (Adnot et al, 1991). Са друге стране, прекомерна синтеза NO имала је позитиван ефекат на ремоделирање васкулатуре плућног паренхима и хипертрофију десне коморе, узроковане хроничном хипоксијом (Ozaki et al., 2001).

Подаци о деловању азот-монооксида на бронхијалну циркулацију пливача прилично су недоследни. Ипак, доступне публикације сугеришу да NO посредује и вазодилатацију у бронхијалним крвним судовима.

⁷ Гванилил-циклаза (сGC) – једини познати рецептор за азот-монооксид; ензим укључен у процес вазодилатације

⁸ Циклични гуанозин-монофосфат – дериват гуанозин-трифосфата (GTP); његову синтезу катализује гванилил-циклаза (сGC)

Ефекти азот - монооксида на микроваскулатуру и пермеабилност нису у потпуности разјашњени. Оно што је познато је да NOS инхибитори спречавају цурење плазме у микроваскулатури, изазвано супстанцом Р⁹ и леукотрином, али не након хистамина. Наведено јасно указује на значај NO у екстраваскуларном цурењу плазме изазваном неким од инфламаторних агенаса (Kageyama et al., 1997). Истовремено, аутори истичу да се цурење плазме индуковано овим супстанцама повећава као одговор на ендогени NO, посебно у екстрапулмоналном, али не и у интрапулмоналним дисајним путевима (Ricciardolo, 2003).

Имајући у виду објашњени механизам, не би требало занемарити потенцијалну улогу пливања у контролисању бронхијалне и алергијске астме, будући да оно, за разлику од осталих физичких активности, изазива малу или никакву бронхоопструкцију (Geinger, Henschke, 2015). Ако у обзир узмемо и чињенице да околина у којој се пливање одвија подразумева влажност, ниску изложеност респираторним алергенима и хидростатски притисак на зидовима грудног коша, јасно је да пливање изузетно повољно утиче на развој кардиореспираторног фитнеса и повећања волумена плућа, али и на квалитет технике дисања *en general* (Cumming, 2017).

Иако постоје извесне конфронтације у погледу резултата значајних савремених студија које су се бавиле појединим аспектима механизма деловања NO на респираторни систем, већина резултата је у сагласју

⁹ Супстанца Р – неуропептид који функционише као неуротрансмитер и неуромодулатор; ослобађа се из нервних завршетака специфичних сензорних нерава, учествује у инфламаторним процесима и сензацији бола.

у вези позитивне и заштитне улоге NO насталог активношћу конститутивних изоформи NOS, у случајевима када је примећена његова хипоконцентрација. Такође, постоје и слагања о потенцијално штетним ефектима високих концентрација NO, у случајевима када он настаје из индуктивних изоформи NOS.

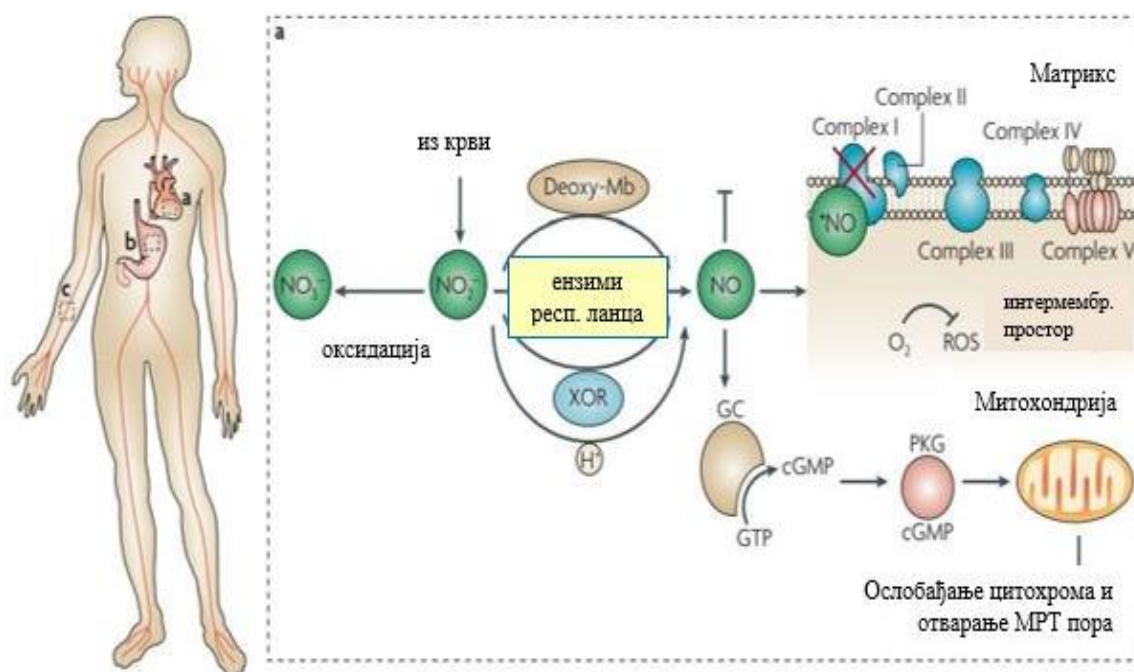
Бенефити имерзије одавно су познати. Оно што је новост је да су они делимично условљени транслокацијом крви у торакалну регију, али и компресијом зидова грудног коша хидростатским притиском, у чијој регулацији учествује такође и азот-моноксид. Као последица поменутог заједничког деловања запажа се смањење виталног капацитета за 6-9% и повећање фреквенције дисања током имерзије, што несумњиво имплицира да је боравак у адекватној воденој средини изузетно погодан за процес респираторног тренинга и рехабилитације (Cumming, 2017).

5.2. Синтеза и улоге у кардиоваскуларном систему

Кардиоваскуларни систем може се посматрати као „биотоп NO система“, будући да је само откриће азот – монооксида произишло из експеримената изведених на ендотелу васкулатуре, али и захваљујући чињеници да је први донор NO који је икада коришћен у сврхе лечења (Lundberg, Weitzberg, 2022) био нитроглицерин. Као што је у поглављу посвећеном биосинтези азот-монооксида објашњено, „кључ“ је у активној компоненти релаксирајућег фактора пореклом из ендотела (EDRF), која се синтетише из аминокиселине L-аргинин и опушта глатке мишиће артерија активирањем cGC, који потом учествује у формирању cGMP. Стога, јасно је да поремећај у биосинтези ове супстанце може имати централну улогу у стварању и прогресији кардиоваскуларних болести.

Срце сисара се, као што је познато, састоји од две преткоморе које сакупљају крв и две коморе које је испумпавају. Електрични импулс покренут у десној преткомори шири се кроз проводни систем срца ради координације контракције миокарда. Две изоформе NOS, nNOS и eNOS, насумично су распоређене у срцу (Strijdom, 2009) и учествују у овом процесу. У ткивима као што је срчано, постоји читав низ путева синтезе азот – монооксида из нитрита, чија је потенцијација нарочито изражена у стању хипоксије, укључујући ксантин-оксидоредуктазу (XOR), деоксигенисани миоглобин (deoxy-Mb), ензиме митохондријалног ланца и слично.

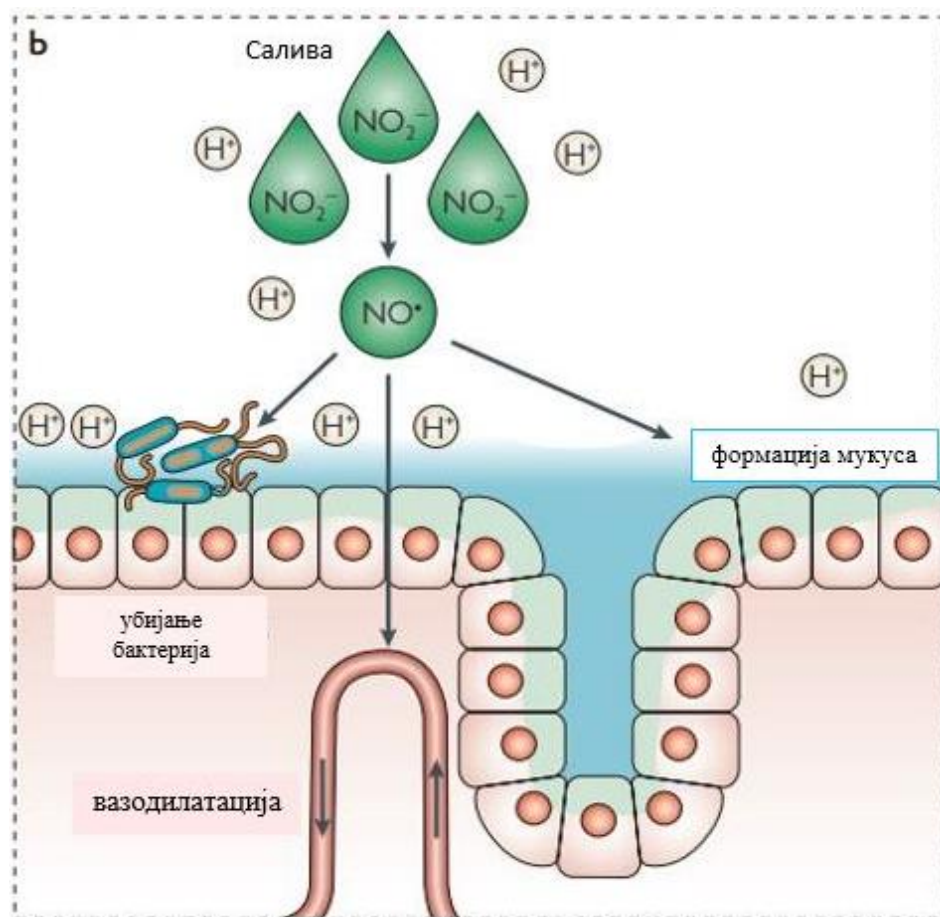
Наведени путеви, као и синтеза NO из S-нитрозотиола, о ком је у претходним поглављима било више речи, учествују у модулацији инфламације, инхибирају митохондријално дисање и формирање реактивних кисеоничких врста, док такође покрећу cGMP зависну сигнализацију током стања аноксије (Lundberg, Weitzberg, Gladwin, 2008) (слика 10).



слика 10. Путеви редукције нитрита до NO
(модиф. према Lundberg et al, 2008)

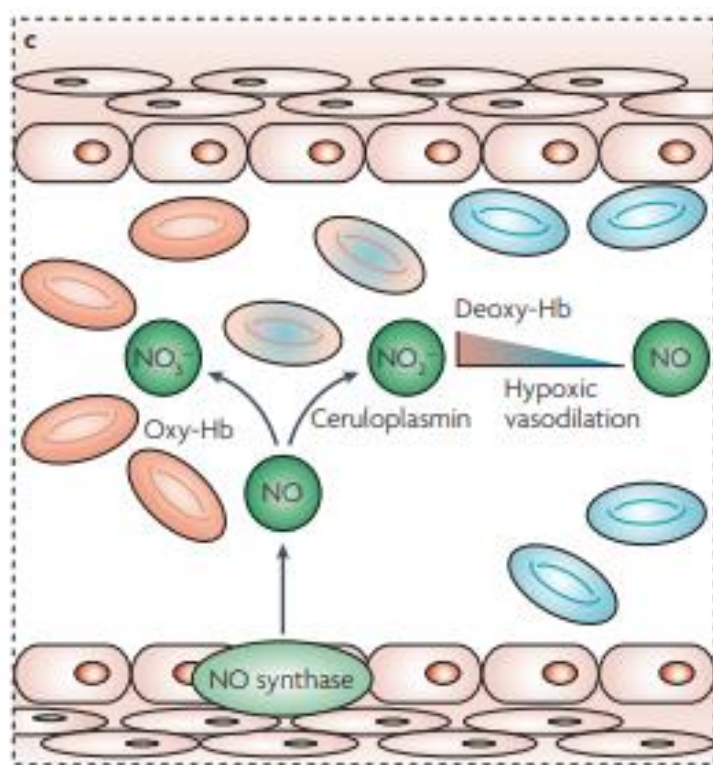
Продукција биоактивног азот – монооксида из нитрита повећава се при киселим и редукционим условима. Сходно томе, у киселом лумену желуца, NO се неензимски генерише из нитрита сливе, након формирања азотне киселине (HNO_2), након чега се поново разлаже до азот – монооксида и других реактивних азотних врста.

Овако продукован NO помаже у борби са патогеним бактеријама, а такође има улогу и у стимулацији протока крви кроз слузокожу желуца и формирању мукуса, чиме побољшава заштиту овог органа (слика 11).



слика 11. Пuteви редукције нитрита до NO
(модиф. према Lundberg et al, 2008)

Као што је поменуто, унутар крвних судова, нитрит учествује у формирању вазодилататорног азот – монооксида након реакције са деоксимиоглобином (deoxy-MB) и на тај начин доприноси регулацији крвотока (слика 12).



слика 12. Пuteви редукције нитрита до NO
(према Lundberg et al, 2008)

Поред наведених агенаса значајних за биосинтезу азот – монооксида, важно је назначити да и физички агенси, као што су електрична струја, акупунктура, светлост и електромагнетно поље и сл. могу стимулисати ослобађање NO у кардиоваскуларном систему.

Азот – моноксид који синтетишу ендотелне ћелије дифундује у свим правцима. Око 70-90% се испере крвљу, у којој се користи при агрегацији тромбоцита и има значајну улогу у формирању крвних угрушака. Преостала количина дифундује до зида артерија и вена и покреће каскаде које доводе до релаксације глатких мишића (Grange, Isotani, Lau, Kamm, Huang, Stull, 2001). Опустање околних глатких мишића омогућава повећање пречника крвног суда, што директно доводи до снижавања крвног притиска.

Кардиоваскуларни систем одржава константан ниво азот – монооксида за оптималан проток крви. Када се проток повећа, ендотел ослобађа више азот – монооксида, како би одржао своју концентрацију. У присуству различитих патолошких стања и процеса, као што је таложење плакова холестерола на зидовима артерија, NO се не производи у мери у којој је потребан, што доводи до вазоконстрикције, која смањује проток крви, повећава крвни притисак и води у хипертензивно стање.

Азот – моноксид се у кардиоваскуларном систему такође може синтетисати и из тромбоцита. Тако синтетисан, NO има улогу у превенцији коагулације, стварања тромба и блокаде артерија. Настанак патолошких механизма у овом систему води до коронарне тромбозе и главни је узрок цереброваскуларног инсульта.

Само по себи, срце ослобађа значајну количину азот - монооксида, кроз периоде систоле и дијастоле. У физиолошким условима, у срцу које куца производе га ендотелне ћелије које су по правилу увек налазе у непосредној близини миоцита.

Без механичке трансдукције/продукције азот – монооксида, срчани волумен би се нагло мењао при наглим променама оптерећења. Поменути постепени одговор срца на нагле промене оптерећења, посредован NO, назива се још и „срчана меморија“. Људско срце је осетљивије на низак ниво NO него на низак ниво кисеоника; прекид снабдевања организма NO довешће до леталног исхода за 10-15 секунди, што је значајно брже у односу на прекид снабдевања кисеоника, који до смрти доводи за 5-7 минута (Murphy, 1999).

У условима када срце мора да обезбеди екстензиван рад, као што је то случај код спортског пливања, у процес синтетисања азот - монооксида укључују се и миоцити. За иницијацију ове појаве нису заслужни поменути механички обрасци, већ адреналин, чије ослобађање иницира нервни систем.

Телесно вежбање представља глобално прихваћен концепт, који се уједно сматра изузетно корисним у смањивању стопе морбидитета и морталитета код особа које болују од кардиоваскуларних болести (Keteyian et al., 1996). Пливање, као форма физичког вежбања, побољшава циркулацију и повећава проток крви, а студије спроведене на псима показале су и повећање пречника коронарне васкулатуре након вежбања (Bowe, Dewey, 1985).

Ова сазнања представљала су темељ нових студија, које су показале да адекватан и правилно дозиран програм вежбања у води може смањити периферни васкуларни отпор, како код пацијената са хипертензијом (Nelson et al., 1986) тако и код здравих особа (Jennings et al., 1986).

С обзиром на чињеницу да је, као што је објашњено, проток крви повећан, ова активност индукује напон смицања на површини ендотела, што је, са друге стране, један од физиолошких стимулуса за формирање азот - монооксида (Cooke, Rossitch, Andon, Loscalzo, Dzau, 1991., Miller, Burnett, 1992).

Дакле, један од фундаменталних физиолошких механизма који леже у основи бенефита физичког вежбања на кардиоваскуларни систем човека, а нарочито аеробног, какво је и пливање, управо је повећање продукције NO. Поред тога, истраживања показују да је у популацији пливача ризик од смртности од свих узрока (а нарочито услед кардиоваскуларних обољења) мањи, у поређењу са особама које седе, пешаче или трче (Chase et al., 2008).

Урањање у воду узрокује да на тело делује сила притиска, која утиче на повећање притиска у капацитивним крвним судвима, што даље изазива померање запремине крви у торакалну дупљу. На тај начин повећава се венски прилив крви у срце (Epstein, 1978). Он уједно омогућава веће предоптерећење десне и леве коморе. Повећавају се притисци пуњења левог и десног срца, док се ударни волумени леве и десне коморе повећавају према Франк - Старлинговом закону, што резултира повећањем минутног волумена срца за 30–60% (Lotshaw, Thompson, Sadowsky, Hart, Millard, 2007).

Повећање крвног притиска тада активира барорецепторе, који снижавају срчану фреквенцу. Појачано ослобађање азот - монооксида изазвано спољном компресијом услед хидростатског притиска, доводи до системског смањења васкуларног отпора (Sun, Huang, Kaley, 2004).

Студија рађена на лабораторијским мишевима (Zhang et al., 2007) доказала је да тренинг пливања има позитивне ефекте на контрактилну функцију срца, али и одговор на инсулин. Наведени процес првенствено омогућава фацилитација уноса глукозе у срчани мишић, стимулисана инсулином. Молекуларна основа овог процеса ослања се на повећану транслокацију транспортера глукозе типа 4 (GLUT4).

Такође, примећена је и повећана концентрација протеин - киназе и eNOS у групи испитаника која је била изложена тренингу пливања. Сви наведени механизми које тренинг пливања подстиче повећавају биосинтезу азот-моноксида у срчаном мишићу (Zhang et al., 2007). Новије експерименталне студије, спроведене на анималном узорку лабораторијских пацова, показале су да тренинг пливања може имати битну улогу у превенцији атеросклеротских стања и обољења супримацијом фосфорилације eNOS, односно обезбеђивањем стабилности плака (Pellegrin et al., 2009).

Благотворни ефекти пливања на функције срца могу се делимично приписати регулацији експресије nNOS, изазване тренингом (Sessa et al., 1994). Једна од првих студија које су се бавиле утицајем тренинга пливања на активност NOS у плућима, преткоморама и аорти показала је да тренинг пливања побољшава вазодилаторну функцију ендотела, што се даље огледа у повећаној активности ендотел-зависног вазодилатора (ACh), али и ендотел-зависног вазоконстриктора (L-NAME) (Tatchum-Talom et al., 2000). Како је показано, дејство ACh је изазвало значајну редукцију средњег артеријског крвног притиска

(MABP) у експерименталној групи, у односу на контролну групу сачињену од узорка који није био подвргнут тренингу пливања.

Будући да је од раније познато да је азот – моноксид изузетно важан сигнални молекул, који учествује у регулацији васкуларног тонуса и крвног притиска (Moncada, Higgs, 1993., Rees, Palmer, Moncada, 1989), резултати ове студије сугеришу да тренинг пливања подстиче ендотелијалну синтезу NO у васкулатури читавог система (Tatchum-Talom, Schulz, McNeill, Khadour, 2000).

Студија из 2002. године показала је да људска врста поседује геном који подстиче на физичку активност, док је савремени, седентарни начин живота фактор који га супримира (Booth, Chakravarthy, Spangenburg, 2002). У складу са тим, аутори ове студије закључују да је физичко вежбање чинилац који хомеостатске механизме враћа у опсег физиолошких (Booth et al., 2002). Ова студија подстакла је бројна нова истраживања на тему утицаја физичког вежбања на поремећај вазодилаторне функције, који је индукован поремећајима у биосинтези NO. Резултати ових истраживања показали су да је пливање, поред осталих форми физичког вежбања, довело до побољшања функције крвних судова у групи особа са кардиоваскуларним обољењима, док су промене на здравим испитаницима биле мање конзистентне.

Другим речима, функције ендотела подложније су побољшању услед физичког вежбања - пливања у популацији особа оболелих од кардиоваскуларних болести, него што је то случај у популацији младих или здравих, којима ће за овај ефекат бити потребан знатно

већи континуитет, интензитет или обим тренинга (Kingwell, Sherrard, Jennings, Dart, 1997., Maiorana, O'Driscoll, Taylor, Green, 2003).

Разумевање бенефита које тренинг пливања остварује на регулацију протеина, биосинтезу eNOS, метаболизам глукозе и функцију срчаног мишића знатно може помоћи у креирању специфичног програма вежбања у води, усмереног ка пацијентима оболелим од различитих форми кардиоваскуларних обољења до којих долази услед дефицита поменутог молекула (слика 13).



слика 13. Улога NO у генези појединих васкуларних обољења
(модиф. према Bryan, 2018)

5.3. Синтеза и улоге у нервном систему, моторном учењу и интелектуалном развоју

Азот – моноксид је молекул који је значајно инволвиран у процес централне и периферне неуронске сигнализације, регулишући читав спектар модалитета, у који су укључене моторна контрола, енергетска хомеостаза, спавање, процес учења и памћења, анксиозност, исхрана, али и регулација церебралног крвотока (Garthwaite, 2019). Најзаступљенија изоформа азот – монооксида у централном нервном систему човека је неурална NOS. Дистрибуирана је у готово свим можданим регијама, са израженом присутношћу у кортексту церебелума, олфакторном булбусу, стријатуму, хипоталамусу и хипокампусу, као и глутаминергичким и GABA интернеуронима (Tricoire, Vitalis, 2012., Chachlaki, 2020).

Једна од главних улога азот – монооксида у мозгу је контрола пресинаптичке функције, која има утицај на синаптичку пластичност и дугорочну потенцијацију (Hardingham, Dachtler, Fox, 2013). Поред ње, изузетно је значајна улога коју NO остварује у церебралној функцији, односно регулацији церебралног крвотока. Вазодилататорни одговор церебралних крвних судова на изазове хиперкарбије, хипоксије и ауторегулационе механизме крвног притиска остварује се захваљујући васкуларној eNOS (Toda, Ayajiki, Okamura, 2009).

Азот – моноксид који се ствара у појединим неуронима у периферном нервном систему има улогу неуротрансмитера који помаже у контроли кардиоваскуларног, респираторног и дигестивног система.

Као што је познато, неуронска активност, а са њом и све функције које се приписују централном и периферном нервном систему, заснивају се на синтези и ослобађању неуротрансмитера.

Управо од поменутих процеса зависе повећање и смањење продукције електричних сигнала у мозгу, који настају услед протока позитивно и негативно наелектрисаних јона кроз неурон, што утиче на промену електричног потенцијала неуромембране. Крајњи исход овог процеса је екситација или инхибиција неурона (Malinski, 2000). У централном нервном систему, NO делује као неуротрансмитер, превасходно у малом мозгу. Будући да је реч о веома лабилном слободном радикалу, важно је напоменути да се не складишти у синаптичким везикулама, као остали неуротрансмитери. Напротив, он се по потреби мора синтетисати из свог прекурсора, L – аргинина, уз помоћ дејства једног од биолошки најрегулисанијих ензима, NOS, способног за брзу модулацију (Zhang, Snyder, 1995). Тако синтетисан азот – моноксид не може се ослободити процесом егзоцитозе, већ дифундује из нервних завршетака, а уместо да се везује за протеинске рецепторе на суседним ћелијама, он у њих такође дифундује. Неурони који синтетишу азот – моноксид првенствено су примећени у кортексу, стријатуму, али га садрже и педункулопонтни тегментални нуклеус и substantia nigra compacta – регије мозга које имају значајну улогу у моторној контроли човековог кретања (Vincent, Kimura, 1992).

Прецизније, оно што се заправо догађа током увежбавања технике пливања и моторичког учења, односно симултана потенцијација нервног пута, од његовог почетка у мозгу, до мишића и осталих делова ефекторског система, у доброј мери одвија се захваљујући синтези азот – монооксида унутар самог нервног система.

Овај молекул је посредник у интеракцији између ендотелних ћелија и ћелија глатких мишића у крвним судовима. Такође, NO је укључен и у контролу активности хипокампуса (Hu, Zhu, 2014), а самим тим и контролу процеса учења и памћења (Paul, Ekambaram, 2011., Susswein, Katzoff, Miller, Hurwitz, 2004).

Другим речима, сматра се да је азот – моноксид неопходан фактор за развој дугорочне меморије. Његове велике концентрације су цитотоксичне за већину нервних ћелија, услед губитка гвожђа, инхибиције синтезе ДНК, митохондријалног дисања, али и активности аконитазе унутар саме ћелије (Hibbs, Taintor, Vavrin, Rachlin, 1988., Calabrese, Mancuso, Calvani, Rizzarelli, Butterfield, Stella, 2007).

Истраживања спровођена на лабораторијским животињама, која су подразумевала извођење неког просторног задатка (укључујући пливање), утврдила су значајно повећање концентрације нитрита у хипокампусу, чак и до 45% (Harooni, Naghdi, Sepehri, Rohani, 2009). Обављање задатака који су захтевали посебно ангажовање просторног памћења праћено је порастом концентрације NOS, у истом локалитету (Zhang, Chen, Wang, 1998).

Са друге стране, у последњих неколико година приметан је пораст у броју научних публикација које се односе на NO у улози кључног медијатора у развоју бројних неуродегенеративних обољења, укључујући Алцхајмерову, Хантингтонову и Паркинсонову болест, амиотрофичну латералну склерозу, али и акутну исхемију мозга (Huang et al, 1994., Liberatore et al, 1999., Sultana et al, 2006., Wang, Hong, Yang, 2022).

6. ПЛИВАЊЕ И ВЕЖБАЊЕ У ВОДИ – ФЕНОМЕН НА ТРОМЕЋИ ЗДРАВЉА, НАУКЕ И СПОРТА

Пливање представља глобални културолошки феномен, али и једну од малобројних физичких активности које су од самог настанка, који се уједно преклапа са настанком првобитних друштвених заједница, свеприсутне и општеприхваћене од стране друштва. Спада у групу најпопуларнијих облика аеробног вежбања које, као што је већ деценијама познато, позитивно утиче на побољшање општег кардиореспираторног фитнеса, али и укупног здравља, нарочито у старијој и популацији пацијената оболелих од различитих хроничних болести. Оно је, нарочито са здравственог аспекта, једна од најподобнијих физичких активности, која изузетно позитивно делује на физиолошке, функционалне, когнитивне и моторичке способности особа свих старосних доби. Иако представља потпуно аутономну спортску грану, може се сврстати у групу моноструктуралних цикличних спортова, те стога чињеница да у њему доминирају једноставни, репетитивни кретни обрасци ни најмање не зачуђује.

Од када је 1538. Године Nikolaus Wynmann написао прву књигу о пливању - „Пливач, или двосмерни разговор о уметности пливања“ („*Der Schwimmer oder ein Zweigespräch über die Schwimmkunst*“), до 1970. када је у Бриселу одржан први научни скуп посвећен овом спорту (Pelayo, Alberty, 2011) пливање је прешло дуг и сложен развојни пут како би, као резултат интерференције искустава пливача (и њихових тренера) и актуелних научних сазнања, постало оно што је

данас – важно научно-истраживачко поље у наукама о спорту (а све чешће и медицини и сродним наукама) које окупља мултидисциплинарне тимове широм света.

Резултати бројних лонгитудиналних и студија пресека одавно су показали да је редовно бављење физичким вежбањем, укључујући пливање, повезано са смањењем укупне стопе морталитета популације, али и бољим здравственим статусом и функционисањем организма (Stephens, 1988). Наведено се превасходно односи на ублажавање симптома различитих кардиоваскуларних обољења (Katzmarzyk, Malina, Bouchard, 1999), канцера (Brown, Winters Stone, Lee, Schmitz, 2012), остеопорозе (Pinheiro, Oliveira, Bauman, 2020), *diabetes mellitus*-а (Helmrich, Ragland, Leung, Paffenbarger, 1991), анксиозности и депресије (Stephens, 1988).

Ипак, упркос свему наведеном, пливању се у савременим публикацијама посвећује много мање пажње у односу на друге спортове, првенствено трчање и бициклизам, који још увек у свету рекреације представљају синоним аеробног вежбања. Са друге стране, у погледу манифеста форме физичке активности, пливање обилује појединостима које га битно разликују од свих осталих, а које произлазе из специфичног положаја тела, образаца дисања, радно активних мишићних група током извођења активности, али ништа мање специфична и важна није ни средина у којој се оно изводи, а захваљујући којој оно и остварује добар део својих позитивних ефеката;

Од како људска врста постоји, уочава се, у ширем и ужем смислу, и њена потреба за водом. Захваљујући њој, човек је своје физичке и интелектуалне капацитете константно морао усмеравати ка осмишљавању нових начина којима би се њоме снабдевао, али и уз помоћ којих би се од ње, у посебним ситуацијама, сачувао. Услед постојања овог проблема, али и рада на његовом решавању, коришћењем интуитивних и искуствених решења, развијено је потпуно ново сазнајно поље које се данас детаљно изучава и назива механиком флуида. Поменута научна грана средину у којој се пливање одвија, воду, посматра као „њутновски флуид“, односно „материју способну да струји“ (Црнојевић, 2018).

У складу са тим, њој се приписују поједина физичка својства, од којих су, у контексту спортског пливања, најзначајнија густина/стишљивост и вискозност. Захваљујући њима, човек је у могућности да користи све благодати воде, али и да на њеној површини успостави кретање – да плива. Другим речима, својства саме средине у којој се пливање одвија значајно утичу како на услове (који врло често подразумевају тренинг у условима хипоксије), тако и на само кретање, али и физиолошке одговоре тела на боравак појединца у њој. У сржи поменутих физиолошких адаптација налази се, према једној од теорија, азот – моноксид, о чијој ће конкретној улози у простору пливања бити више речено у поглављима која следе.

6.1. Азот – моноксид у процесу трансформације пливачких вештина и компетенција

Утапање представља један од водећих узрочника случајне смрти на планетарном нивоу, нарочито међу популацијом деце и адолесцената. Сваке године, према подацима добијеним у опсежној глобалној студији, утопи се најмање 295 000 људи (Franklin, Peden, Hamilton. Bisignano et al, 2020), што овај проблем чини једним од значајнијих јавно - здравствених проблема савременог друштва, при чему се више од половине свих смртних случајева узрокованих утапањем дешава међу популацијом млађом од 25 година. Глобални извештај о утапању Светске здравствене организације као један од водећих фактора ризика који доводе до утапања наводи узраст појединца; највећа стопа уочава се у популацији деце узраста од 0-4, али и 5-9 година. У западно – пацифичкој регији СЗО, утапање је, у популацији деце узраста 5-14 година, учесталије него било који други узрочник леталитета.

Једна од најефикаснијих стратегија у превенцији утапања, коју уједно, као једну од десет кључних стратегија дужи низ година истичу СЗО, Црвени крст и Црвени полумесец, свакако је обука пливања и безбедности на води (WHO, 2017). Другим речима, учење пливања, односно пут трансформације од овладавања вештином пливања до формирања компетенција појединца за учешће у активностима у води, кроз примену систематски структурираног програма обуке пливања и безбедности на води представља изузетно важну карику у ланцу фактора који утичу на превенцију утапања (Peden, Franklin, 2020).

Пливање, као што се може закључити, изискује моторичко обучавање, са циљем формирања појединца компетентног за обављање различитих животних активности (Јевтић, 2011).

Вештина пливања и самоспасавања развијена у детињству представља темељ и значајан предуслов за учествовање у свим формама физичких активности које се одвијају на површини воде (или у њеној близини) током читавог живота.

Аквизиција знања, вештина и умења у домену пливања доприноси формирању компетентног појединца, спремног да се адаптира и ефикасно суочава са различитим изазовима свакодневице. Будући да је учење препознато као целоживотни процес, развој вештина, знања и умења одвија се, сходно томе, у готово свим животним фазама, при чему се свако ново знање надовезује на она претходно стечена (Moote, Wodarski, 1997). У складу са тим, изузетно је значајно што раније отпочети са обуком пливања и безбедности на води, како би се постигао оптималан ниво знања, умења и вештина потребних за безбедно учествовање у активностима на воденим површинама.

Један од значајних сегмената обуке пливања, који значајно утиче на готово све сегменте учења (али и квалитет обуке и наученог), свакако чини просторна перцепција. Она представља способност перципирања просторних односа у односу на оријентацију тела у простору, упркос постојању различитих дистрактора.

Другим речима, просторна перцепција подразумева свест о простору и положају који појединац у њему заузима.

Реч је о вештини од изузетног значаја за безбедно свакодневно функционисање, а добро развијена просторна перцепција повезана је са изражавањем уметничке креативности, развојем апстрактне мисли, али и успехом у математици и спорту у ширем смислу. Готово сви захтеви које часови пливања подразумевају, од уласка и изласка у базен, преко кретања уз ивицу базена, успостављања плутања, скакања или зарањања, значајно доприносе развоју опште просторне перцепције детета. Такође, сами стимулуси средине у којој се пливање одвија – воде, у великој мери утичу на просторно учење и временом могу допринети модификацији структуре и функције мозга (Gómez-Pinilla, So, Kesslak, 1998).

Једна од теорија којима се поменути механизми објашњавају заступа став да се поменути ефекат остварује захваљујући правилној активности nNOS у глијалним ћелијама, које даље утичу на иницирање различитих фактора са великим утицајем на експресију одређених гена.

Са друге стране, различити поремећаји у биосинтези NOS унутар хипокампуса, а који утичу на хиперпродукцију NOS и NO, чиме условљавају повећање концентрације метаболита, могу се сматрати једним од узрока сметњи у просторном, али и готово свим осталим облицима учења (Hosseini et al., 2010).

Дугорочна потенцијација у хипокампусу представља изванредно поље за јачање синаптичког неуропластичитета, док се истовремено верује да у извесној мери корелира са процесом учења и памћења (Teyler, DiScenna, 1987). Она се иницира активацијом постсинаптичких

NMDA рецептора, а њено одржавање изискује како пресинаптичке, тако и постсинаптичке алтернације (Kullman, Nicoll, 1992).

Будући да је доказано да инхибитори NOS блокирају индукцију дугорочне потенцијације хипокампуса, те стога попут великих количина, ометају поједине врсте учења, сматра се да регуларна синтеза азот – монооксида у регулацији поменутих механизма има изузетно велику улогу (Bredt, Snyder, 1992., Böhme, Bon, Stutzmann, Doble, Blanchard, 1991., Mizutani, Sato, Abe, 1993., Ohno, Yamamoto, Watanabe, 1993).

Другим речима, као што је студија Тојоде, Саита и Мацукија (eng. Toyoda, Saito, Matzuki) спроведена 1996. године и закључила, азот – монооксид је један од неопходних агенаса, без којих би адекватно просторно учење било онемогућено (Toyoda, Saito, Matzuki, 1996). С тим у вези, реч је о једном од значајних сегмената обуке пливања, али и било које друге вежбовне активности у води.

6.2. Азот – моноксид у процесу опоравка и рехабилитације пливача

Тренинг у ширем смислу, а у складу са тим и тренинг пливања, представља скуп акутних изазова којима се организам спортисте (или физички активног појединца) излаже, са циљем постизања хроничне адаптације његових физиолошких карактеристика, односно коначног унапређења његове такмичарске учинковитости (Bishop, Jones, Wood, 2008). Феномену спортског тренинга деценијама уназад посвећује се све већа пажња, а највећи број публикација дуго је био усмерен на изучавање тренажних компонената, упркос већ дуго познатој тврдњи да се адаптација организма изазвана физичким вежбањем у највећој мери одвија у току процеса опоравка након тренинга (Barnett, 2006).

У складу са поменутиим, изостанак адекватног процеса опоравка врло често доводи до немогућности спортисте да тренира жељеним интензитетом, или до тога да он не може у потпуности испунити тренажне задатке који се пред њега постављају. Хронични замор често може довести и до повреда различитих врста, али и степена тежине. Стога, није тешко закључити да је потпуни опоравак неопходан ради достизања оптималног стања организма спортисте, које ће обезбедити квалитетнији спортски наступ (Reilly, Ekblom, 2005). Другим речима, у последње време, различити облици и методе тренинга усмерени на опоравак готово се подразумевају, а у складу са тим и спроводе са коначним циљем унапређења самог тренажног процеса, али и процеса адаптације.

Сесије опорављајућег карактера постале су неизоставан део тренажног процеса свих спортских грана, а усмерене су првенствено ка смањењу стреса и замора, посматраним као нуспродукт свакодневног излагања интензивним тренажним стимулусима. Као основни бенефит примене тренинга опоравка истиче се пружање могућности спортистима да лакше поднесу већа оптерећења на тренингу, односно обезбеде боље одговоре на задате тренажне стимулусе (Вељовић, Међедовић, Остојић, 2012).

У (врхунском) спорту, а све учесталије и у пољу рекреације, данас се користи изузетно велики број метода и техника које за циљ имају убрзавање процеса опоравка. Управо из наведеног разлога, познавање ефикасности поменутих техника и метода, како би адекватан метод био препознат и примењен у процесу опоравка, никада није било нужније. Низ публикација које су се бавиле овом темом, у средиште теорије коју заступају постављају, између осталог и азот – моноксид;

У скелетним мишићима човека синтетишу се готово све изоформе азот – моноксид синтазе. С тим у вези, доказано је да азот – моноксид утиче на процес регулације генерисања мишићне силе, али и на активацију мишићних матичних ћелија (миосателитских ћелија) – малих мултипотентних ћелија, које се налазе у базалној ламини скелетних мишића и имају улогу у регулацији опоравка оштећеног мишићног ткива (Galler, Hilber, Göbesberger, 1997). Једно од првих истраживања која су се бавила улогом NO при оштећењима скелетних мишића спровео је 2000. године Андерсон (eng. Anderson) (Radak, Naito, Taylor, Goto, 2011).

У поменутом истраживању, аутор је посматрао процес опоравка механички руптурираног мишића на анималном узорку подељеном у три групе (група дивљих, NO knock-out и NO инхибираних мишева), како би испитао улогу азот – монооксида у поменутом процесу (Anderson, 2000). Из тог истраживања произишао је важан закључак - да NO олакшава активацију миосателитских ћелија, што је уједно један од првих корака у процесу регенерације оштећеног мишићног ткива.

Такође, током процеса опоравка тетива, чије су повреде настале као исход континуираног пренапрезања, односно услед константног понављања репетитивних кретних образаца, што је у пливању један од најучесталијих начина повређивања (Wanivenhaus, Fox, Chaudhury, Rodeo, 2012), уочен је значајан пораст у домену продукције NO. Поменуто додатно указује на његову улогу у процесу опоравка пливача, нарочито када је реч о повредама зглоба рамена и колена (Szomor, Appleyard, Murell, 2006).

Егзогена примена азот – монооксида, продукованог у специјализованом уређају, такође је недавно испитана; У једној од најновијих публикација Заборове (eng. Zaborova) и сарадника показано је да егзогена примена NO позитивно утиче на поремећаје микроваскулатуре, убрзава транзицију из инфламаторне у пролиферативну фазу, појачава ангиогенезу, пролиферацију фибробласта, као и фиброгенезу колагена (Zaborova, Butenko, Shekhter, Fayzullin, Pekshev, Serejnikova, Chigirintseva, Kryuchkova, Gurevich, 2023). Такође, уочено је и да раније долази до смањења осећаја бола, едема и хематома, као и њиховог потпуног изостанка, али и скраћење

укупног трајања рехабилитационог процеса, у поређењу са контролном групом испитаника који су користили искључиво анти-инфламаторна фармаколошка средства (Zaborova et al., 2023).

У истраживању које је спроведено 2021. године са циљем да се по први пут испита каузалитет између азот – моноксид синтазе и примене криотерапије, методе која се врло често користи као једна од метода опоравка пливача након такмичења, показано је да континуирано излагање криогеним температурама доводи до повећања концентрације iNOS (Weicek, Szygula, Gradek, Kusmierczyk, Szymura, 2021), на рачун чега се убрзава процес опоравка.

Када је реч о имерзији, само ураћање у воду излаже појединца притиску средине, који (чак и при релативно малим дубинама) премашује венски притисак, услед чега крв се помера навише, кроз венски и лимфни систем, прво у бутине, затим у судове трбушне дупље, и коначно у велике судове грудног коша и у срце (Arborelius, Ballidin, Lilja, Lundgren, 1972). Као резултат поменуте каскаде, долази до повећања пулсног притиска, повећаног пуњења срца и смањења срчане фреквенције током термонеутралне или имерзије у хладној води (Gabrielsen, Warberg, Christensen, 2000).

Такође, један од значајних агенаса који врше запажене утицаје на дужину и квалитет опоравка пливача, а који се могу довести у везу са продукцијом NO, представљају исхрана и суплементација спортиста. Недавно спроведена истраживања показала су да суплементација азот – моноксидом у извесној мери побољшава учинковитост, али и опоравак спортисте - пливача (Mor, Atan, Agaoglu, Ayyildiz, 2018).

Поред тога, прегледом литературе утврђено је да постоји читав низ различитих метода суплементирања аргинином, цитрулином и орнитином (Copp, Hirai, Schwagerl, Musch, 2010., Nyberg, Jensen, Thaning, Hellsten, Mortensen, 2012), који су познати као прекурсори NO, а које су у погледу опоравка давале мање или више конзистентне резултате.

Готово идентичан тренд уочен је и код хранљивих материја, као што су кофеин и какао, који поспешују биосинтезу азот – монооксида (Watson, Preedy, Zibadi, 2013., Ludovici et al, 2017., Tsukamoto et al, 2018.) у организму спортисте. Улога различитих намирница и суплемената богатих азот – монооксидом у тренажном, али и процесу опоравка спортиста – пливача, потврђена је у великом броју студија, о којима ће у наредном поглављу, које говори о месту и улози азот – монооксида у простору исхране и суплементације пливача, бити више речи.

Summa summarum, улоге азот – монооксида у самим механизмима процеса опоравка спортиста након тренинга и такмичења, али и након задобијених повреда, вишеструке су и све уочљивије. Ипак, ово поље проучавања, које *de facto* носи изузетан потенцијал, још увек је недовољно истражено.

6.3. Азот – моноксид у исхрани пливача

Правилна исхрана је један од значајних фактора који могу имати крупан утицај на опште здравље, телесни састав и ефикасност спортисте. Будући да остварује директан утицај на његов организам, она релативно лако може довести до побољшања (или погоршања) тренажне и такмичарске учинковитости пливача. Другим речима, и квантитет и квалитет конзумиране хране значајно могу утицати на квалитет изведбе, а важно је истаћи и да усвајању адекватних прехранбених навика треба посветити посебну пажњу у тренажној пракси приликом рада са младим пливачима, будући да је квалитетна исхрана један од неколико значајних предуслова за обављање квалитетног тренинга и такмичења (Maglischo, 1993).

Нутритивни захтеви пливача врло су варијабилни. Они варирају у односу на специфични период тренинга - макроциклус, микроциклус или појединачну тренажну јединицу. Ипак, њихов крајњи циљ је готово увек исти, а он је усмерен ка обезбеђивању одговарајуће количине енергије, као и њене доступности, за потребе тренинга и такмичења (Shaw, Boyd, Burke, Koivisto, 2014), а уз одржавање дугорочног здравља пливача. Према доступним публикацијама, већина нутрициониста и дијететичара који сарађују са пливачима има ујединачено мишљење у вези важности конзумирања целовитих намирница, како би се обезбедио оптималан унос хранљивих материја. Поменути концепт познат је и под називом *food first* - „храна пре свега“ (Grout, McClave, Jampolis, Krueger, Hurt, Landes, Kiraly, 2016).

Ипак, с обзиром на енергетске расходе пливача, понекад унос оптималне количине нутријената, течности, електролита, као и обезбеђивање одговарајуће количине енергије за обављање рада, представља велики изазов. Из наведених, али и бројних других разлога, спортисти - нарочито пливачи, врло често прибегавају коришћењу различитих врста додатака исхрани, односно дијететских суплемената (Knapik, Steelman, Hoedebecke, Austin, Farina, Lieberman, 2016).

Услед изузетно великог броја студија спроведених са циљем да се испитају ефекти суплементације на организам и целокупно здравље спортисте, његов опоравак, као и на његову учинковитост у тренажном и такмичарском систему, процес суплементирања спортиста постао је знатно комплекснији него што је то био случај у прошлости.

У последње две деценије, велику пажњу у домену исхране пливача привлаче оне дијететске манипулације које могу извршити утицај на продукцију азот – монооксида, али и других оксида азота у организму пливача, из којих би он потенцијално могао настати. Пре него што је улога NO у ендогеној сигнализацији уочена, истраживања су се претежно односила на испитивање потенцијално штетне улоге нитрата и нитрита у исхрани, као прекурсора канцерогених нитрозамина (Tannenbaum, Sinskey, Weisman, Bishop, 1974).

Међутим, према саопштењима различитих међународних агенција, повезаност високог уноса нитрата и рака још увек није уочена (EFSA, 2008., Lundberg, Weitzberg, 2022). Напротив, откриће нитрат-нитрит-NO пута синтезе азот – монооксида у организму сисара пробудило је

велико интересовање за коришћење нитрата у исхрани, у сврху повећања системске биоактивности NO, будући да је овај молекул изузетно заступљен у цвекли и зеленом поврћу. Управо је сок од цвекле коришћен је у огромном броју студија, будући да природан сок, као што је поменуто, садржи веома велике количине азот – монооксида, док је сок од цвекле осиромашен нитратима погодан за коришћење испитивања у функцији плацеба (Gilchrist, Winyard, Fulford, Anning, Shore, Benjamin, 2014).

Поред наведеног, значајна су и истраживања ергогених ефеката неорганских нитрата, која су показала да и акутни и хронични унос код спортиста утиче на смањење утрошка кисеоника (Larsen, Weitzberg, Lundberg, Ekblom, 2007), али и на побољшање укупне учинковитости (Jones, Thompson, Wylie, Vanhatalo, 2018). Поменути ефекти се, у популацији пливача, остварују на рачун повећања ефикасности митохондрија (Larsen, Schiffer, Borniquel, et al, 2011), побољшаног дотока крви у радно активне мишиће (Lee, Stebins, Jung, Nho, Kim, Chang, Choi, 2015), као и повећања ефикасности у домену контрактилности самих мишића (Bailey, Fulford, Vanhatalo, et al, 2009). Континуирана суплементација нитратима (у трајању од најмање 15 дана) одржава повећану ефикасност пливача током тренинга, до које је дошло услед конзумације сока од цвекле (Vanhatalo et al, 2010).

Другим речима, дуготрајна суплементација поменутих једињењима не изазива *per se* бољу ефикасност, већ доприноси њеном одржавању, при чему такође не доводи ни до формирања толеранције на суплемент. Важно је истаћи да је, упркос чињеници да је за потребе

већине поменутих студија као суплемент употребљен сок од цвекле, сличне ефекте могуће постићи редовном и адекватном исхраном, повећањем уноса цвекле и спанаћа на приближно 200g (Hord, Tang, Bryan, 2009). Ефекти суплементирања нитратима у извесној мери зависе од саме процедуре процеса суплементације, а нарочито од дозе NO_3^- и трајања поменутог процеса. Сходно томе, ефекти побољшања економичности вежбања примећени након акутне конзумације нитрата остају примећени и до 15 дана, у случајевима када су испитаници конзумирали 5,2mmol (322 mg) нитрата дневно (Vanhatalo et al, 2010), односно и до 28 дана, у случајевима када су конзумирали 6mmol (372 mg) нитрата у току дана (Wylie, de Zavallos, Isidore, Nyman, Vanhatalo, Bailey, Jones, 2016).

Са друге стране, у популацији врхунских пливача, примећена је боља капиларизација скелетних мишића (Jensen, Bangsbo, Hellsten, 2004), повећана концентрација протеина који управљају Ca_2^+ (Kinnunen, Mänttärä, 2012) и/или мањи удео мишићних влакана типа II (Tesch, Karlsson, 1985). Све наведено може имати утицај на нешто мању ефикасност суплементације нитратима у популацији врхунских пливача, у односу на слабије утренирану популацију.

Рана истраживања у вези са ергогеним ефектима дијететских нитрата првенствено су представљена студијама које су процењивале утицај нитрата у исхрани на перформанс спортисте током континуираног вежбања, по типу издржљивости (Bailey et al, 2009., Cerman, Gibala, van Loon, 2012., Cerman, Res, Stinkens, 2012., Lansley et al, 2011).

Међутим, последњих година, све је више публикација које пажњу поменутој вези посвећују кроз призму вежбања високим интензитетом и њему сличним модалитетима вежбања. Оне су, до сада, показале да је период од неколико дана суплементације умереном дозом нитрата ($\sim 8,4\text{--}12,8\text{mmol}$) такође допринео побољшању приликом краткотрајног вежбања максималним интензитетом.

Будући да ензимски вид синтетисања азот - монооксида захтева присуство кисеоника и осталих есенцијалних агенаса, о којима је у претходним поглављима било више речи, уочено је да пут редукције $\text{NO}_3\text{--NO}_2\text{--NO}$ може надокнадити дефицит NO преко активности NOS, у условима смањене доступности кисеоника, односно у условима хипоксије, карактеристичним за спортско пливање (Lundberg, Carlström, Larsen, Weitzberg, 2011). С тим у вези, поменути пут редукције може се посматрати и као потенцијална ергогена помоћ при тренингу на великој надморској висини.

Поред тога, он може имати и терапеутску примену, и то у условима када је доток кисеоника у поједине ћелије акутно или хронично смањен, као што је случај код поремећаја у раду плућа и кардиоваскуларног система, али и код поремећаја спавања, па чак и као последица старења (Jones et al, 2018).

Вежбање у хипоксији, као што је познато, повезано је са смањеном оксидативном функцијом мишића умањеном толеранцијом на вежбање. Нитрати у исхрани имају могућност да до извесне мере побољшају ове ефекте; актуелне студије сугеришу да се капацитет вежбања физички активних појединаца у хипоксији побољшава када се

суплементација нитратима спроводи шест дана, током 24h (Horiuchi, Endo, Dobashi, 2017., Kelly, Vanhatalo, Bailey, 2014., Masschelein, Van Thienen, Wang, 2012.), што није случај и након акутне конзумације (Gasier, Reinhold, Loiselle, Soutiere, Fothergill, 2017).

Важан ентитет који представља једну од кључних детерминанти успешности спортисте јесте и њихова когнитивна учинковитост (McMorris, Graydon, 1996), било да је реч о спортистима који се такмиче у индивидуалним, или о онима који се такмиче у колективним спортским гранама, а који морају доносити важне одлуке врло брзо, уз истовремено обављање моторичких задатака различитог степена сложености. С обзиром на то, постоји велико интересовање за процедуре које би потенцијлно могле побољшати тачност доношења одлука и/или време реакције у такмичарском окружењу. Поједине студије су показале да NO и суплементација нитратима, могу побољшати церебралну перфузију (Wightman, Haskell, Thompson, 2015., Presley, Morgan, Bechtold, 2011), посебно у регијама одговорним за егzekутивне функције (Presley et al, 2011), што је тесно повезано са поменути проблемом. Ипак, студије које су се, барем до овог тренутка, бавиле истраживањем утицаја суплементације нитратима на когнитивне перформансе пливача током пливања (за разлику од других спортских грана) нису спровођене.

Када је реч о L-аргинину, као прекурзору азот – монооксида, број студија који указује да суплементација L-аргинином утиче на побољшање перформанси пливача није нарочито велик. Међутим, када се говори о суплементацији поменути једињењем у комбинацији

са другим једињењима, постоје резултати који говоре о побољшању учинковитости у популацији пливача рекреативаца, али не и врхунских пливача. Са друге стране, L-цитрулин у комбинацији са малатом доказано доприноси побољшању учинковитости спортисте (Gonzalez, Townsend, Pinzone, Hoffman, 2023).

Студијом Мора и сарадника (Mor, Yilmaz, Acar, Birinci, Ipekoglu, 2020) утврђено је да суплементација нитратима, примењена у складу општим препорукама везаним за исхрану и опоравак спортиста, утиче на побољшање опоравка тако што иницира убрзану елиминацију лактата из крви спортисте (Mor et al, 2020).

Као што се из свега наведеног може закључити, посматрање NO₃ у улози дијететског суплемента представља једну од највећих иновација у спортској исхрани током последње три деценије. Док механизми одговорни за уочене физиолошке ефекте остају неразјашњени у потпуности, ефекти на функцију мишића и учинковитост пливача јесу потврђени, нарочито код просечно утренираних и приликом спровођења одговарајућег режима суплементирања.

6.4. Азот – моноксид у процесу адаптације организма пливача на захтеве тренинга и такмичења

Људски организам константно је приморан на бројне адаптације услед континуираног деловања различитих стресогених фактора. Један од највећих свакако је тренинг, односно физичка активност, нарочито она која укључује много различитих мишића или велике мишићне групе, која се изводи умереним интензитетом у продуженом трајању. Поменутом опису, као што се може приметити, у великој мери одговара спортско пливање, односно вежбање у води. С тим у вези, адаптације организма пливача, настале услед примене континуираног тренинга, предмет су проучавања већ прилично дуго времена. Са друге стране, идеја да у великом делу изучаваних адаптационих механизма у одређеној мери удео има и азот – моноксид, релативно је нова.

Као што је познато, он има круцијалну улогу у регулацији протока крви, васкуларне резистенције и крвног притиска (Heinrich, 1991), како у уловима мировања, тако и у условима физичког вежбања. Појачана продукција NO, како је доказано, може довести до споријег повећања системског артеријског крвног притиска након вежбања у динамичким условима (Overton, Joyner, Tipton, 1988). С тим у вези, неке од најнових студија везаних за утврђивање повезаности између азот – монооксида и физичког вежбања – пливања, често истичу важност NO у функцији кардиореспираторног фитнеса (CRF).

Он представља једну од укупно 5 компонената физичког фитнеса (повезаних са здрављем – *health related*) и сматра се „општом мером човековог здравља“.

Има круцијалну улогу у упућивању кардиоваскуларног и респираторног система да кисеоником и енергијом снабдевају радно активне мишиће, којима је, током вежбања у води, преко потребан (Song, Saavedra, Lefferts, Brellenthin, Lee, 2022., Wu, 2022). Студија из 2022. која се бавила управо проучавањем CRF једна је од првих студија које су показале да тренинг пливања може узроковати побољшање укупног кардиореспираторног фитнеса, захваљујући функционалним адаптацијама NO у систему за транспорт кисеоника (Wu, 2022).

У студији спроведеној 2019. године на узорку од десет младих пливача, показано је да се током периода интензивног тренинга пливања концентрација NO смањила испод границе, узрокујући притом недостатак гвожђа без настанка анемије, насупрот периоду ретренинга. Током двомесечног периода детренинга, поменути ефекти су се, како је показано, анулирали, при чему се количина NO вратила у границе референтних вредности, као што је и у ранијим студијама био случај (Maeda, Miyauchi, Kakiyama, 2001., Wang, 2005). Снижене вредности NO у крви корелирају са повећаним нивоима MVC. Редукована концентрација азот – монооксида у тренажном периоду може се објаснити изузетно високим оксидативним стресом на крају посматраног периода, али се може посматрати и као резултат интеракције NOx и еритроцита, услед хипоксије.

Другим речима, познато је да интензивне форме аеробног вежбања, попут пливања, могу утицати на повећање оксидативног стреса (Kingwell, 2000., Powers, Nelson, Hudson, 2011), док повећан оксидативни стрес инхибира активност NOS, те самим тим снижава ниво NO у крви (Kingwell, 2000). Такође, до снижавања нивоа азот – монооксида у крви може доћи и услед повећане потрошње NOx, али и повећања количине црвених крвних зрнаца и хемоглобина, до чега долази услед услова хипоксије у којима пливачи неретко тренирају (Turgay, Ongun, Şişman, Çolakoğlu, 2019).

Када је реч о хипоксији, студија спроведена на рониоцима на дах показала је да статичко и динамичко задржавање даха (које се примењује и у тренажном систему спортског пливања) има значајан утицај на оксидативни стрес, о чему сведочи повећање укупног оксидативног статуса организма спортисте, али и укупног оксидативног капацитета (Solich-Talanda, Żebrowska, Mikołajczyk, 2021).

У адаптацији организма на тренирање у условима хипоксије значајну улогу има управо NO, док хипоксија, са друге стране, модулира активност NOS, утиче на доступност NO у ткивима, експресију гена који утиче на синтезу NOS, и сл. (Manukhina, Downey, Mallet, 2006).

Када говоримо о васкуларним структурама, студије рађене на анималном узорку показале су да краткотрајно вежбање, у трајању од две до четири недеље, утиче на повећање ендотелне синтезе NO у артериолама скелетних мишића (Sun, Huang, Koller, Kaley, 1994).

Са друге стране, након екстензивног тренинга, барем у периферној циркулацији, уочена је повећана продукција NO и других медијатори који потенцијално изазивају структуралне промене у крвним судовима (Brown, 2003., Prior, Lloyd, Yang, Terjung, 2003). На крају, ендотел са сниженом активношћу подложнији је позитивној адаптацији насталој услед примене тренинга пливања, него што је то случај са ендотелом младих и здравих особа уредне функције, ком ће за постизање поменуте адаптације бити потребан тренинг већег обима или интензитета.

У последње време, број студија које се баве проналаском оптималног модалитета и интензитета вежбања зарад побољшања структуре и функције васкуларног система спортиста, али и интригантним односом између ових фактора, али и функције ендотела и оксидативног стреса у организму пливача, у све је очигледнијем порасту.

7. ЗАКЉУЧАК

Паралелно са периодом настанка првих древних цивилизација, развијало се и веровање да вода, а касније и пливање, поседује извесна лековита својства. Кроз векове посматрања, покушаја и погрешака, поменута идеја, па и сама традиција лечења коришћењем својстава воде, приметно је унапредовала. Вода је, дакле, медијум у ком се одвија како терапијско, тако и рекреативно вежбање, у ком учествују особе свих животних доби.

Само пливање, као еклатантан пример вежбовне активности у воденој средини, омиљена је активност великог броја вежбача, која подстиче како његов опоравак, тако и развој целокупне личности. Као што је одавно утврђено, оно доноси прегршт бенефита особама са различитим врстама обољења, при чему такође позитивно утиче и на придружена стања и болести који се јављају заједно са примарним узрочницима.

Познато је да вежбање, уз сам боравак у води, помаже у олакшању бола, мишићног спазма, одржавању и повећању обима покрета, јачању инсуфицијентне мускулатуре, побољшању опште циркулације и функције плућа, али и одржавању и побољшавању равнотеже, координације и постуре. Многе од побројаних бенефита, вежбање у воденој средини – пливање, индиректно остварује захваљујући дејству које врши на биосинтезу азот – монооксида, али и *vice versa*, као што је у неколико поглавља детаљно и описано.

Прецизна теоријска анализа и процена утицаја што већег броја различитих фактора на систем тренинга и такмичења пливача представља изузетно важну компоненту рада, како за истраживаче који се баве наукама у спорту, тако и за тренере, па и саме спортисте. Овакав приступ омогућава спортским стручњацима да уоче нове потенцијалне варијабле, на основу којих се може вршити корекција и унапређење тренажног процеса, па самим тим и направити искорак у погледу резултата и целокупног напретка пливача.

С тим у вези, сврха овог мастер рада је да синтетизује низ научних доприноса, проистеклих из различитих научних дисциплина, у кохерентан корпус знања о биохемији пливања, односно да се аквизицијом доступних података и анализом са освртом на доступност и искористљивост NO у систему спортског пливања (али и вежбања у води у најширем смислу) утврди степен повезаности поменутих ентитета. Сходно томе, важно је закључити да би азот – моноксид у систему спортског пливања у ширем смислу могао имати значајне и бројне улоге, као што је то случај са организмом самог пливача, у ужем контексту;

У току фазе обуке пливања и безбедности на води, али и у каснијим фазама унутар система, које подразумевају константан рад на техници пливања, поменути молекул могао би имати значајну улогу, будући да врши одређени утицај на кортикалне структуре задужене за просторно учење, што је потврђено у бројним анималним студијама, али и студијама које су урађене на узорцима који су учествовали у другим спортским гранама.

У простору опоравка пливача након тренинга и такмичења, али и у домену рехабилитације након спортских повреда, потенцијално место азот – монооксида такође се назире. Пре свега, захваљујући чињеници да се у човековим мишићима синтетишу готово све изоформе азот-моноксид синтазе која утиче на активацију миосателитских ћелија које имају улогу у регулацији опоравка оштећеног мишићног ткива. Даље, егзогена примена азот – монооксида у рехабилитацији пливача позитивно утиче на поремећаје микроваскулатуре, убрзава транзицију из инфламаторне у пролиферативну фазу, појачава ангиогенезу, пролиферацију фибробласта, као и фиброгенезу колагена, а самим тим раније долази до смањења осећаја бола, едема и хематома, као и њиховог потпуног изостанка, али и скраћење укупног трајања рехабилитационог процеса.

Једно од најперспективнијих поља погодних за истраживање свакако је исхрана и суплементација пливача азот-моноксидом, односно нитритима и нитратима, али и појединим прекурсорима NO. Суплементација поменутих једињењима не изазива *per se* бољу ефикасност пливача, већ доприноси њеном одржавању, а важно је истаћи и да ефекти суплементирања у извесној мери зависе од саме процедуре процеса суплементације, дозе (количине) NO₃⁻ и трајања поменутог процеса, али и степена утренираности пливача. Такође, у последње време уочава се и све већа повезаност између NO и кардиореспираторног фитнеса, а један од најзначајнијих закључака свакако је да тренинг пливања може узроковати његово

укупно побољшање, захваљујући функционалним адаптацијама NO оствареним у систему за транспорт кисеоника.

Ипак, извесно је да већина истраживања обрађених за потребе писања овог мастер рада у овом тренутку вероватно не би постојала да откриће о општим улогама азот – монооксида у организму сисара није крајем 1998. године награђено Нобеловом наградом, због чијег је престижа и репутације овај молекул добио изузетно велики публицитет.

С тим у вези, потпуно је јасно да је реч о раду од изузетног значаја за разумевање функционисања људског организма, али и човекове физичке активности, који је уједно и једна од прекретница у истраживањима функционисања спортисте. Овај рад је, такође, допринео измештању науке из простора медицинске патологије у простор наука о кретању физичком вежбом, односно пливањем.

На крају, битно је истаћи да је додељивање поменуте Нобелове награде умногоме помогло и у дугачком процесу преображаја човечанства;

Поред чињенице да је утицало на генерисање читавог низа нових, софистициранијих и специфичнијих питања, оно је такође подстакло напредак и омогућило друштву да се развија у више различитих праваца.

Што је најважније, у изузетно великој мери помогло је човеку да продре до суштине различитих процеса који га окружују, изграђују, али и оних у којима својом вољом учествује.

На тај начин, човек је по ко зна који пут успео да боље спозна себе самог, али и да постане свестан свог окружења, као и места и улоге које заузима у читавом Космосу.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Adak, S., Wang, Q., & Stuehr, D. J. (2000). Molecular basis for hyperactivity in tryptophan 409 mutants of neuronal NO synthase. *The Journal of biological chemistry*, 275(23), 17434–17439.
2. Adnot, S., Raffestin, B., Eddahibi, S., Braquet, P., & Chabrier, P. E. (1991). Loss of endothelium-dependent relaxant activity in the pulmonary circulation of rats exposed to chronic hypoxia. *The Journal of clinical investigation*, 87(1), 155–162.
3. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. 2001. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.* 357:593-614.
4. Anderson J. E. (2000). A role for nitric oxide in muscle repair: nitric oxide-mediated activation of muscle satellite cells. *Molecular biology of the cell*, 11(5), 1859–1874.
5. Antosova, M., Mokra, D., Pepucha, L., Plevkova, J., Buday, T., Sterusky, M., & Bencova, A. (2017). Physiology of nitric oxide in the respiratory system. *Physiological research*, 66(Suppl 2), S159–S172.
6. Antosova, M., Plevkova, J., Strapkova, A. and Buday, T. (2012) Nitric oxide—Important messenger in human body. *Open Journal of Molecular and Integrative Physiology*, 2, 98-106.
7. Arborelius, M., Jr, Ballidin, U. I., Lilja, B., & Lundgren, C. E. (1972). Hemodynamic changes in man during immersion with the head above water. *Aerospace medicine*, 43(6), 592–598.
8. Bailey, S. J., Fulford, J., Vanhatalo, A., Winyard, P. G., Blackwell, J. R., DiMenna, F. J., Wilkerson, D. P., Benjamin, N., & Jones, A. M.

- (2010). Dietary nitrate supplementation enhances muscle contractile efficiency during knee-extensor exercise in humans. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md: 1985), 109(1), 135–148.
9. Bailey, S. J., Winyard, P., Vanhatalo, A., Blackwell, J. R., Dimenna, F. J., Wilkerson, D. P., Tarr, J., Benjamin, N., & Jones, A. M. (2009). Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 107(4), 1144–1155.
 10. Barnett A. (2006). Using recovery modalities between training sessions in elite athletes: does it help? *Sports medicine* (Auckland, N.Z.), 36(9), 781–796.
 11. Benjamin, N., O'Driscoll, F., Dougall, H., Duncan, C., Smith, L., Golden, M., & McKenzie, H. (1994). Stomach NO synthesis. *Nature*, 368(6471), 502.
 12. Billiar, T. R., Cirino, G., Fulton, D., Motterlini, R., Papapetropoulos, A., & Szabo, C. (2019). Nitric oxide synthases (version 2019.4) in the IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology Database.
 13. Bishop, P. A., Jones, E., & Woods, A. K. (2008). Recovery from training: a brief review: brief review. *Journal of strength and conditioning research*, 22(3), 1015–1024.
 14. Böhme, G. A., Bon, C., Stutzmann, J. M., Doble, A., & Blanchard, J. C. (1991). Possible involvement of nitric oxide in long-term potentiation. *European journal of pharmacology*, 199(3), 379–381.
 15. Booth, F. W., Chakravarthy, M. V., & Spangenburg, E. E. (2002). Exercise and gene expression: physiological regulation of the human

- genome through physical activity. *The Journal of physiology*, 543(Pt 2), 399–411.
16. Bove, A. A., & Dewey, J. D. (1985). Proximal coronary vasomotor reactivity after exercise training in dogs. *Circulation*, 71(3), 620–625.
 17. Bredt, D. S., & Snyder, S. H. (1992). Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron*, 8(1), 3–11.
 18. Brown M. D. (2003). Exercise and coronary vascular remodelling in the healthy heart. *Experimental physiology*, 88(5), 645–658.
 19. Brown, G. C., & Borutaite, V. (2002). Nitric oxide inhibition of mitochondrial respiration and its role in cell death. *Free radical biology & medicine*, 33(11), 1440–1450.
 20. Brown, J. C., Winters-Stone, K., Lee, A., & Schmitz, K. H. (2012). Cancer, physical activity, and exercise. *Comprehensive Physiology*, 2(4), 2775–2809.
 21. Bruckdorfer R. (2005). The basics about nitric oxide. *Molecular aspects of medicine*, 26(1-2), 3–31.
 22. Bryan, Nathan. (2018). Functional Nitric Oxide Nutrition to Combat Cardiovascular Disease. *Current Atherosclerosis Reports*. 20. 21.
 23. Butler, A., Nicholson, R. (2003). *Life, death and Nitric Oxide*. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry
 24. Calabrese, V., Mancuso, C., Calvani, M., Rizzarelli, E., Butterfield, D. A., Stella, A. M. (2007). Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nature reviews. Neuroscience*, 8(10), 766–775.

25. Carlisle, A. J., Sharp, N. C. (2001). Exercise and outdoor ambient air pollution. *British journal of sports medicine*, 35(4), 214–222.
26. Cayatte, A. J., Palacino, J. J., Horten, K., & Cohen, R. A. (1994). Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Arteriosclerosis and thrombosis: a journal of vascular biology*, 14(5), 753–759.
27. Celermajer, D. S., Sorensen, K. E., Gooch, V. M., Spiegelhalter, D. J., Miller, O. I., Sullivan, I. D., Lloyd, J. K., Deanfield, J. E. (1992). Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet (London, England)*, 340(8828), 1111–1115.
28. Cermak, N. M., Gibala, M. J., & van Loon, L. J. (2012). Nitrate supplementation's improvement of 10-km time-trial performance in trained cyclists. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 22(1), 64–71.
29. Cermak, N. M., Res, P., Stinkens, R., Lundberg, J. O., Gibala, M. J., & van Loon, L. J. (2012). No improvement in endurance performance after a single dose of beetroot juice. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 22(6), 470–478.
30. Chachlaki, K., Prevot, V. (2020). Nitric oxide signalling in the brain and its control of bodily functions. *British journal of pharmacology*, 177(24), 5437–5458.
31. Chase, Nancy L.; Sui, Xuemei; and Blair, Steven N. (2008) "Swimming and All-Cause Mortality Risk Compared With Running,

- Walking, and Sedentary Habits in Men," *International Journal of Aquatic Research and Education*: Vol. 2: No. 3, Article 3.
32. Chung, H. T., Pae, H. O., Choi, B. M., Billiar, T. R., & Kim, Y. M. (2001). Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis. *Biochemical and biophysical research communications*, 282(5), 1075–1079.
 33. Coleman J. W. (2001). Nitric oxide in immunity and inflammation. *International immunopharmacology*, 1(8), 1397–1406.
 34. Cooke, J. P., Rossitch, E., Jr, Andon, N. A., Loscalzo, J., & Dzau, V. J. (1991). Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *The Journal of clinical investigation*, 88(5), 1663–1671.
 35. Copp, S. W., Hirai, D. M., Schwagerl, P. J., Musch, T. I., & Poole, D. C. (2010). Effects of neuronal nitric oxide synthase inhibition on resting and exercising hindlimb muscle blood flow in the rat. *The Journal of physiology*, 588(Pt 8), 1321–1331.
 36. Cotton, F.A., Wilkinson, G., Murillo, C.A. and Bochmann, M. (1999) *Advanced inorganic chemistry*. 6th Edition. Wiley, New York.
 37. Culotta, E., Koshland, D. E., Jr (1992). NO news is good news. *Science* (New York, N.Y.), 258(5090), 1862–1865.
 38. Cumming, I. (2017). *The health & wellbeing benefits of swimming*. London: England's Swimming and Health Commission.
 39. Daiber, A., Xia, N., Steven, S., Oelze, M., Hanf, A., Kröller-Schön, S., Münzel, T., & Li, H. (2019). New Therapeutic Implications of Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Function/Dysfunction in

Cardiovascular Disease. International journal of molecular sciences, 20(1), 187.

40. Darwin, C. (1859). *On the origin of species by means of natural selection, or preservation of favoured races in the struggle for life*. London: John Murray
41. Dias-Junior, C. A., Cau, S. B., & Tanus-Santos, J. E. (2008). Papel do óxido nítrico na regulação da circulação pulmonar: implicações fisiológicas, fisiopatológicas e terapêuticas [Role of nitric oxide in the control of the pulmonary circulation: physiological, pathophysiological, and therapeutic implications]. *Jornal brasileiro de pneumologia : publicacao oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia*, 34(6), 412–419.
42. Duncan, C., Dougall, H., Johnston, P., Green, S., Brogan, R., Leifert, C., Smith, L., Golden, M., & Benjamin, N. (1995). Chemical generation of nitric oxide in the mouth from the enterosalivary circulation of dietary nitrate. *Nature medicine*, 1(6), 546–551.
43. Dweik R. A. (2001). The promise and reality of nitric oxide in the diagnosis and treatment of lung disease. *Cleveland Clinic journal of medicine*, 68(6), 486–493.
44. EFSA, E. (2008). Nitrate in vegetables: scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *The EFSA Journal*, 689, 1-79.
45. Eiserich JP, Patel RP, & O'Donnell VB. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Mol. Aspects Med* 1998; 19:221-357.

46. Epstein M. (1978). Renal effects of head-out water immersion in man: implications for an understanding of volume homeostasis. *Physiological reviews*, 58(3), 529–581.
47. Förstermann, U., & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European heart journal*, 33(7), 829–837.
48. Franklin, R. C., Peden, A. E., Hamilton, E. B., Bisignano, C., Castle, C. D., Dingels, Z. V., Hay, S. I., Liu, Z., Mokdad, A. H., Roberts, N. L. S., Sylte, D. O., Vos, T., Abady, G. G., Abosetugn, A. E., Ahmed, R., Alahdab, F., Andrei, C. L., Antonio, C. A. T., Arabloo, J., Arba, A. A. K., ... James, S. L. (2020). The burden of unintentional drowning: global, regional and national estimates of mortality from the Global Burden of Disease 2017 Study. *Injury prevention: journal of the International Society for Child and Adolescent Injury Prevention*, 26(Supp 1), 83–95.
49. Furchgott, R. F., Zawadzki, J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288(5789), 373–376.
50. Gabrielsen, A., Warberg, J., Christensen, N. J., Bie, P., Stadeager, C., Pump, B., & Norsk, P. (2000). Arterial pulse pressure and vasopressin release during graded water immersion in humans. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 278(6), R1583–R1588.
51. Galler, S., Hilber, K., & Göbesberger, A. (1997). Effects of nitric oxide on force-generating proteins of skeletal muscle. *Pflügers Archiv: European journal of physiology*, 434(3), 242–245.
52. Garthwaite J. (2019). NO as a multimodal transmitter in the brain: discovery and current status. *British journal of pharmacology*, 176(2), 197–211.

53. Gasier, H. G., Reinhold, A. R., Loiselle, A. R., Soutiere, S. E., & Fothergill, D. M. (2017). Effects of oral sodium nitrate on forearm blood flow, oxygenation and exercise performance during acute exposure to hypobaric hypoxia (4300 m). *Nitric oxide: biology and chemistry*, 69, 1–9.
54. Geiger, K. R., & Henschke, N. (2015). Swimming for children and adolescents with asthma. *British journal of sports medicine*, 49(12), 835–836.
55. Gell D. A. (2018). Structure and function of haemoglobins. *Blood cells, molecules & diseases*, 70, 13–42.
56. Gilchrist, M., Winyard, P. G., Fulford, J., Anning, C., Shore, A. C., & Benjamin, N. (2014). Dietary nitrate supplementation improves reaction time in type 2 diabetes: development and application of a novel nitrate-depleted beetroot juice placebo. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 40, 67–74.
57. Gillman M. A. (2019). Mini-Review: A Brief History of Nitrous Oxide use in Neuropsychiatry. *Current drug research reviews*, 11(1), 12–20.
58. Gladwin, M. T., Ognibene, F. P., Pannell, L. K., Nichols, J. S., Pease-Fye, M. E., Shelhamer, J. H., & Schechter, A. N. (2000). Relative role of heme nitrosylation and beta-cysteine 93 nitrosation in the transport and metabolism of nitric oxide by hemoglobin in the human circulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(18), 9943–9948.
59. Gómez-Pinilla, F., So, V., & Kesslak, J. P. (1998). Spatial learning and physical activity contribute to the induction of fibroblast growth

- factor: neural substrates for increased cognition associated with exercise. *Neuroscience*, 85(1), 53–61.
60. Gonzalez, A. M., Townsend, J. R., Pinzone, A. G., & Hoffman, J. R. (2023). Supplementation with Nitric Oxide Precursors for Strength Performance: A Review of the Current Literature. *Nutrients*, 15(3), 660.
 61. Gow, A. J., & Stamler, J. S. (1998). Reactions between nitric oxide and haemoglobin under physiological conditions. *Nature*, 391(6663), 169–173.
 62. Grange, R. W., Isotani, E., Lau, K. S., Kamm, K. E., Huang, P. L., & Stull, J. T. (2001). Nitric oxide contributes to vascular smooth muscle relaxation in contracting fast-twitch muscles. *Physiological genomics*, 5(1), 35–44.
 63. Green, D., Cheetham, C., Reed, C., Dembo, L., O'Driscoll, G. (2002). Assessment of brachial artery blood flow across the cardiac cycle: retrograde flows during cycle ergometry. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 93(1), 361–368.
 64. Grout, A., McClave, S.A., Jampolis, M.B., Krueger, K.J., Hurt, R.T., Landes, S., Kiraly, L. (2016). Basic Principles of Sports Nutrition. *Current Nutrition Reports*, 5, 213-222.
 65. Gruetter, C.A., Barry, B.K., McNamara, D.B., Gruetter, D.Y., Kadowitz, P.J., Ignarro, L., 1979. Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and acarcinogenic nitrosoamine. *J. Cyclic Nucleotide Res.* 5, 211–224.

66. Guimarães, L. M. F., Rossini, C. V. T., & Lameu, C. (2021). Implications of SARS-Cov-2 infection on eNOS and iNOS activity: Consequences for the respiratory and vascular systems. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 111-112, 64–71.
67. Guyton, A.C., Hall, J.E. (2000) *Textbook of Medical Physiology*. Elsevier Saunders, Amsterdam.
68. Hampl, V. (1995). Nitric oxide in the pulmonary circulation during hypoxia. *Anaesthesia* 50: 264-265
69. Harooni, H. E., Naghdi, N., Sepehri, H., & Rohani, A. H. (2009). The role of hippocampal nitric oxide (NO) on learning and immediate, short- and long-term memory retrieval in inhibitory avoidance task in male adult rats. *Behavioural brain research*, 201(1), 166–172.
70. Henrich W. L. (1991). The endothelium--a key regulator of vascular tone. *The American journal of the medical sciences*, 302(5), 319–328.
71. Hewett, S. J., Muir, J. K., Lobner, D., Symons, A., & Choi, D. W. (1996). Potentiation of oxygen-glucose deprivation-induced neuronal death after induction of iNOS. *Stroke*, 27(9), 1586–1591.
72. Hibbs JB Jr, Taintor RR, Vavrin Z. Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deaminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science* 1987; 235:437-476.
73. Hibbs, J. B., Jr, Taintor, R. R., Vavrin, Z., & Rachlin, E. M. (1988). Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochemical and biophysical research communications*, 157(1), 87–94.

74. Hierholzer, C., Harbrecht, B., Menezes, J. M., Kane, J., MacMicking, J., Nathan, C. F., Peitzman, A. B., Billiar, T. R., & Tweardy, D. J. (1998). Essential role of induced nitric oxide in the initiation of the inflammatory response after hemorrhagic shock. *The Journal of experimental medicine*, 187(6), 917–928.
75. Hölscher, C., McGlinchey, L., Anwyl, R., & Rowan, M. J. (1996). 7-Nitro indazole, a selective neuronal nitric oxide synthase inhibitor in vivo, impairs spatial learning in the rat. *Learning & memory* (Cold Spring Harbor, N.Y.), 2(6), 267–278.
76. Hord, N. G., Tang, Y., & Bryan, N. S. (2009). Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *The American journal of clinical nutrition*, 90(1), 1–10.
77. Horiuchi, M., Endo, J., Dobashi, S., Handa, Y., Kiuchi, M., & Koyama, K. (2017). Muscle oxygenation profiles between active and inactive muscles with nitrate supplementation under hypoxic exercise. *Physiological reports*, 5(20), e13475.
78. Hosseini, M., Dastghaib, S. S., Rafatpanah, H., Hadjzadeh, M. A., Nahrevanian, H., & Farrokhi, I. (2010). Nitric oxide contributes to learning and memory deficits observed in hypothyroid rats during neonatal and juvenile growth. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 65(11), 1175–1181.
79. Hu, Y., & Zhu, D. Y. (2014). Hippocampus and nitric oxide. *Vitamins and hormones*, 96, 127–160.
80. Huang, Z., Huang, P. L., Panahian, N., Dalkara, T., Fishman, M. C., & Moskowitz, M. A. (1994). Effects of cerebral ischemia in mice

- deficient in neuronal nitric oxide synthase. *Science* (New York, N.Y.), 265(5180), 1883–1885.
81. Huber, W., In: *Inflammation-Mechanisms and Treatment* ed: P. A. Willoughby and J. P. Giroud. University Park Press, Baltimore, p. 27 (1980)
 82. Ignarro L. J. (1989). Endothelium-derived nitric oxide: pharmacology and relationship to the actions of organic nitrate esters. *Pharmaceutical research*, 6(8), 651–659.
 83. Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E., & Chaudhuri, G. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(24), 9265–9269.
 84. Ignarro, L.J. Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein. *Circ. Res* 1998; 65:1-21.
 85. Ilyakina, E., Poddel'sky, A., Cherkasov, V., Abakumov, G. (2012). Binding of NO by Nontransition Metal Complexes. *Mendeleev Communications*, 12 (4), 208-210.
 86. Ioannidis, I., Hellinger, A., Dehmlow, C., Rauen, U., Erhard, J., Eigler, F. W., & De Groot, H. (1995). Evidence for increased nitric oxide production after liver transplantation in humans. *Transplantation*, 59(9), 1293–1297.
 87. Izzo, A. A., Mascolo, N., Maiolino, P., & Capasso, F. (1996). Nitric oxide-donating compounds and cyclic GMP depress the spontaneous

- contractile activity of the isolated rabbit jejunum. *Pharmacology*, 53(2), 109–113.
88. Jennings, G., Nelson, L., Nestel, P., Esler, M., Korner, P., Burton, D., & Bazelmans, J. (1986). The effects of changes in physical activity on major cardiovascular risk factors, hemodynamics, sympathetic function, and glucose utilization in man: a controlled study of four levels of activity. *Circulation*, 73(1), 30–40.
 89. Jensen, L., Bangsbo, J., & Hellsten, Y. (2004). Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*, 557(Pt 2), 571–582.
 90. Jia, L., Bonaventura, C., Bonaventura, J., & Stamler, J. S. (1996). S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature*, 380(6571), 221–226.
 91. Jones, A. M., Thompson, C., Wylie, L. J., & Vanhatalo, A. (2018). Dietary Nitrate and Physical Performance. *Annual review of nutrition*, 38, 303–328.
 92. Karaula, D., Homolak, J., Perzel, I. (2022). Plivanje kao dodatni trening u kondicijskoj pripremi sportaša u sportovima izvan vode s aspekta respiratornog sustava. 20. godišnja međunarodna konferencija. Kondicijska priprema sportaša, Zbornik radova, Zagreb, 18. veljače 2022., str.155-159
 93. Katzmarzyk, P. T., Malina, R. M., & Bouchard, C. (1999). Physical activity, physical fitness, and coronary heart disease risk factors in youth: the Québec Family Study. *Preventive medicine*, 29(6 Pt 1), 555–562.

94. Kelly, J., Vanhatalo, A., Bailey, S. J., Wylie, L. J., Tucker, C., List, S., Winyard, P. G., & Jones, A. M. (2014). Dietary nitrate supplementation: effects on plasma nitrite and pulmonary O₂ uptake dynamics during exercise in hypoxia and normoxia. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 307(7), R920–R930.
95. Keteyian, S. J., Levine, A. B., Brawner, C. A., Kataoka, T., Rogers, F. J., Schairer, J. R., Stein, P. D., Levine, T. B., & Goldstein, S. (1996). Exercise training in patients with heart failure. A randomized, controlled trial. *Annals of internal medicine*, 124(12), 1051–1057.
96. Kingwell B. A. (2000). Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 14(12), 1685–1696.
97. Kingwell, B. A., Sherrard, B., Jennings, G. L., & Dart, A. M. (1997). Four weeks of cycle training increases basal production of nitric oxide from the forearm. *The American journal of physiology*, 272(3 Pt 2), H1070–H1077.
98. Kinnunen, S., & Mänttari, S. (2012). Specific effects of endurance and sprint training on protein expression of calsequestrin and SERCA in mouse skeletal muscle. *Journal of muscle research and cell motility*, 33(2), 123–130.
99. Knapik, J. J., Steelman, R. A., Hoedebecke, S. S., Austin, K. G., Farina, E. K., Lieberman, H. R. (2016). Prevalence of Dietary

Supplement Use by Athletes: Systematic Review and Meta-Analysis.
Sports medicine (Auckland, N.Z.), 46(1), 103–123.

100. Knowles, R. G., & Moncada, S. (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *The Biochemical journal*, 298 (Pt 2) (Pt 2), 249–258.
101. Kopincova, J., & Calkovska, A. (2016). Meconium-induced inflammation and surfactant inactivation: specifics of molecular mechanisms. *Pediatric research*, 79(4), 514–521.
102. Koppenol W. H. (1998). The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxynitrite. *Free radical biology & medicine*, 25(4-5), 385–391.
103. Koshland Jr., D.E., 1992. The molecule of the year. *Science* 258, 1861.
104. Kullmann, D. M., & Nicoll, R. A. (1992). Long-term potentiation is associated with increases in quantal content and quantal amplitude. *Nature*, 357(6375), 240–244.
105. Lancaster J. R., Jr (2020). Historical origins of the discovery of mammalian nitric oxide (nitrogen monoxide) production/physiology/pathophysiology. *Biochemical pharmacology*, 176, 113793.
106. Lansley, K. E., Winyard, P. G., Bailey, S. J., Vanhatalo, A., Wilkerson, D. P., Blackwell, J. R., Gilchrist, M., Benjamin, N., & Jones, A. M. (2011). Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance. *Medicine and science in sports and exercise*, 43(6), 1125–1131

107. Larsen, F. J., Schiffer, T. A., Borniquel, S., Sahlin, K., Ekblom, B., Lundberg, J. O., Weitzberg, E. (2011). Dietary inorganic nitrate improves mitochondrial efficiency in humans. *Cell metabolism*, 13(2), 149–159.
108. Larsen, F. J., Weitzberg, E., Lundberg, J. O., & Ekblom, B. (2007). Effects of dietary nitrate on oxygen cost during exercise. *Acta physiologica (Oxford, England)*, 191(1), 59–66.
109. Lee, J. S., Stebbins, C. L., Jung, E., Nho, H., Kim, J. K., Chang, M. J., & Choi, H. M. (2015). Effects of chronic dietary nitrate supplementation on the hemodynamic response to dynamic exercise. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 309(5), R459–R466.
110. Liberatore, G. T., Jackson-Lewis, V., Vukosavic, S., Mandir, A. S., Vila, M., McAuliffe, W. G., Dawson, V. L., Dawson, T. M., & Przedborski, S. (1999). Inducible nitric oxide synthase stimulates dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson disease. *Nature medicine*, 5(12), 1403–1409.
111. Loscalzo, J., Welch, G. (1995). Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Progress in cardiovascular diseases*, 38(2), 87–104.
112. Ludovici, V., Barthelmes, J., Nägele, M. P., Enseleit, F., Ferri, C., Flammer, A. J., Ruschitzka, F., & Sudano, I. (2017). Cocoa, Blood Pressure, and Vascular Function. *Frontiers in nutrition*, 4, 36.
113. Lundberg, J. O., & Weitzberg, E. (2022). Nitric oxide signaling in health and disease. *Cell*, 185(16), 2853–2878.

114. Lundberg, J. O., Carlström, M., Larsen, F. J., & Weitzberg, E. (2011). Roles of dietary inorganic nitrate in cardiovascular health and disease. *Cardiovascular research*, 89(3), 525–532.
115. Lundberg, J. O., Weitzberg, E. (2022). Nitric oxide signaling in health and disease. *Cell*, 185(16), 2853–2878.
116. Lundberg, J. O., Weitzberg, E., & Gladwin, M. T. (2008). The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature reviews. Drug discovery*, 7(2), 156–167.
117. Maeda, S., Miyauchi, T., Kakiyama, T., Sugawara, J., Iemitsu, M., Irukayama-Tomobe, Y., Murakami, H., Kumagai, Y., Kuno, S., Matsuda, M. (2001). Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. *Life sciences*, 69(9), 1005–1016.
118. Maglischo, E. (1993). *Swimming even faster*. Mountain View, CA: Mayfield Publishing Company. Pg: 663-698.
119. Maiorana, A., O'Driscoll, G., Taylor, R., & Green, D. (2003). Exercise and the nitric oxide vasodilator system. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, 33(14), 1013–1035.
120. Malinski, T. (2000). The vital role of nitric oxide. *Oakland J.*
121. Manukhina, E. B., Downey, H. F., & Mallet, R. T. (2006). Role of nitric oxide in cardiovascular adaptation to intermittent hypoxia. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, 231(4), 343–365.

122. Mao, Y. J., Wu, J. B., Yang, Z. Q., Zhang, Y. H., & Huang, Z. J. (2020). Nitric oxide donating anti-glaucoma drugs: advances and prospects. *Chinese journal of natural medicines*, 18(4), 275–283.
123. Marsh, N., Marsh, A. (2000). A short history of nitroglycerine and nitric oxide in pharmacology and physiology. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 27(4), 313–319.
124. Masschelein, E., Van Thienen, R., Wang, X., Van Schepdael, A., Thomis, M., & Hespel, P. (2012). Dietary nitrate improves muscle but not cerebral oxygenation status during exercise in hypoxia. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 113(5), 736–745.
125. McMorris, T., & Graydon, J. (1996). The effect of exercise on the decision-making performance of experienced and inexperienced soccer players. *Research quarterly for exercise and sport*, 67(1), 109–114.
126. Melikian, N., Seddon, M. D., Casadei, B., Chowienczyk, P. J., & Shah, A. M. (2009). Neuronal nitric oxide synthase and human vascular regulation. *Trends in cardiovascular medicine*, 19(8), 256–262.
127. Mikkelsen, R. B., & Wardman, P. (2003). Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. *Oncogene*, 22(37), 5734–5754.
128. Miller, V. M., & Burnett, J. C., Jr (1992). Modulation of NO and endothelin by chronic increases in blood flow in canine femoral arteries. *The American journal of physiology*, 263(1 Pt 2), H103–H108.

129. Mizutani, A., Saito, H., & Abe, K. (1993). Involvement of nitric oxide in long-term potentiation in the dentate gyrus in vivo. *Brain research*, 605(2), 309–311.
130. Moncada, S., & Higgs, E. A. (2006). The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British journal of pharmacology*, 147 Suppl 1(Suppl 1), S193–S201.
131. Moncada, S., Palmer, R. M., & Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological reviews*, 43(2), 109–142.
132. Moote, G. T., Jr., Wodarski, J. S. (1997). The acquisition of life skills through adventure-based activities and programs: a review of the literature. *Adolescence*, 32(125), 143–167.
133. Mor, A., Atan, T., Agaoglu, S. A., & Ayyildiz, M. (2018). Effect of arginine supplementation on footballers' anaerobic performance and recovery. *Progress in Nutrition*, 20(1), 104–112.
134. Mor, A., Yilmaz, A. K., Acar, K., Birinci, M. C., & Ipekoglu, G. (2020). Does Nitric Oxide Intake Affect Post-Exercise Recovery in Athletes? A Study on Cocoa, Caffeine and Nitric Oxide Supplement: Effect of Nitric Oxide Intake in Athletes. *Progress in Nutrition*, 22(3), e2020007.
135. Moroz, L. L., & Kohn, A. B. (2011). Parallel evolution of nitric oxide signaling: diversity of synthesis and memory pathways. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 16(6), 2008–2051.
136. Muller, B., Kleschyov, A. L., Alencar, J. L., Vanin, A., & Stoclet, J. C. (2002). Nitric oxide transport and storage in the cardiovascular

- system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 962, 131–139.
137. Murad F. (1994). The nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system for intracellular and intercellular communication. *Recent progress in hormone research*, 49, 239–248
 138. Murphy M. P. (1999). Nitric oxide and cell death. *Biochimica et biophysica acta*, 1411(2-3), 401–414.
 139. Nathan C. (1992). Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 6(12), 3051–3064.
 140. Nelson, L., Jennings, G. L., Esler, M. D., & Korner, P. I. (1986). Effect of changing levels of physical activity on blood-pressure and haemodynamics in essential hypertension. *Lancet* (London, England), 2(8505), 473–476.
 141. Nyberg, M., Jensen, L. G., Thaning, P., Hellsten, Y., & Mortensen, S. P. (2012). Role of nitric oxide and prostanoids in the regulation of leg blood flow and blood pressure in humans with essential hypertension: effect of high-intensity aerobic training. *The Journal of physiology*, 590(6), 1481–1494.
 142. Ohno, M., Yamamoto, T., & Watanabe, S. (1993). Deficits in working memory following inhibition of hippocampal nitric oxide synthesis in the rat. *Brain research*, 632(1-2), 36–40.
 143. Overton, J. M., Joyner, M. J., & Tipton, C. M. (1988). Reductions in blood pressure after acute exercise by hypertensive rats. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md: 1985), 64(2), 748–752.

144. Ozaki M, Kawashima S, Yamashita T, Ohashi Y, Rikitake Y, Inoue N, Hirata KI, Hayashi Y, Itoh H, Yokoyama M (2001). Reduced hypoxic pulmonary vascular remodeling by nitric oxide from the endothelium. *Hypertension* 37: 322-327.
145. Palmer, R. M., Ashton, D. S., & Moncada, S. (1988). Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, 333(6174), 664–666.
146. Palmer, R. M., Ferrige, A. G., & Moncada, S. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327(6122), 524–526.
147. Pantopoulos, K., & Hentze, M. W. (1995). Rapid responses to oxidative stress mediated by iron regulatory protein. *The EMBO journal*, 14(12), 2917–2924.
148. Paul, V., Ekambaram, P. (2011). Involvement of nitric oxide in learning & memory processes. *The Indian journal of medical research*, 133(5), 471–478.
149. Peden, A. E., Franklin, R. C. (2020). Learning to Swim: An Exploration of Negative Prior Aquatic Experiences among Children. *International journal of environmental research and public health*, 17(10), 3557.
150. Pelayo, P., Alberty, M. (2011). The history of swimming research. *World Book of Swimming: From Science to Performance*.
151. Peliowski, A., Canadian Paediatric Society, Fetus and Newborn Committee (2012). Inhaled nitric oxide use in newborns. *Paediatrics & child health*, 17(2), 95–100.

152. Pellegrin, M., Miguet-Alfonsi, C., Bouzourene, K., Aubert, J. F., Deckert, V., Berthelot, A., Mazzolai, L., & Laurant, P. (2009). Long-term exercise stabilizes atherosclerotic plaque in ApoE knockout mice. *Medicine and science in sports and exercise*, 41(12), 2128–2135.
153. Pinheiro, M.B., Oliveira, J., Bauman, A. *et al.* Evidence on physical activity and osteoporosis prevention for people aged 65+ years: a systematic review to inform the WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *Int J Behav Nutr Phys Act* **17**, 150 (2020).
154. Powers, S. K., Nelson, W. B., & Hudson, M. B. (2011). Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free radical biology & medicine*, 51(5), 942–950.
155. Presley, T. D., Morgan, A. R., Bechtold, E., Clodfelter, W., Dove, R. W., Jennings, J. M., Kraft, R. A., King, S. B., Laurienti, P. J., Rejeski, W. J., Burdette, J. H., Kim-Shapiro, D. B., & Miller, G. D. (2011). Acute effect of a high nitrate diet on brain perfusion in older adults. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 24(1), 34–42.
156. Prior, B. M., Lloyd, P. G., Yang, H. T., & Terjung, R. L. (2003). Exercise-induced vascular remodeling. *Exercise and sport sciences reviews*, 31(1), 26–33.
157. Qin, L., Liu, X., Sun, Q., Fan, Z., Xia, D., Ding, G., Ong, H. L., Adams, D., Gahl, W. A., Zheng, C., Qi, S., Jin, L., Zhang, C., Gu, L., He, J., Deng, D., Ambudkar, I. S., & Wang, S. (2012). Sialin (SLC17A5) functions as a nitrate transporter in the plasma membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(33), 13434–13439.

158. Radak, Z., Naito, H., Taylor, A. W., & Goto, S. (2012). Nitric oxide: is it the cause of muscle soreness? *Nitric oxide: biology and chemistry*, 26(2), 89–94.
159. Rådegran G. (1997). Ultrasound Doppler estimates of femoral artery blood flow during dynamic knee extensor exercise in humans. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md:1985), 83(4), 1383–1388.
160. Radomski, M. W., Zakar, T., & Salas, E. (1996). Nitric oxide in platelets. *Methods in enzymology*, 269, 88–107.
161. Rees, D. D., Palmer, R. M., & Moncada, S. (1989). Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(9), 3375–3378.
162. Reilly, T., & Ekblom, B. (2005). The use of recovery methods post-exercise. *Journal of sports sciences*, 23(6), 619–627.
163. Ricciardolo F. L. (2003). Multiple roles of nitric oxide in the airways. *Thorax*, 58(2), 175–182.
164. Robbins, R. A., & Grisham, M. B. (1997). Nitric oxide. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 29(6), 857–860.
165. Roza, A. M., Cooper, M., Pieper, G., Hilton, G., Dembny, K., Lai, C. S., Lindholm, P., Komorowski, R., Felix, C., Johnson, C., & Adams, M. (2000). NOX 100, a nitric oxide scavenger, enhances cardiac allograft survival and promotes long-term graft acceptance. *Transplantation*, 69(2), 227–231.
166. Sakuma, I., Togashi, H., Yoshioka, M., Saito, H., Yanagida, M., Tamura, M., Kobayashi, T., Yasuda, H., Gross, S. S., & Levi, R.

- (1992). NG-methyl-L-arginine, an inhibitor of L-arginine-derived nitric oxide synthesis, stimulates renal sympathetic nerve activity in vivo. A role for nitric oxide in the central regulation of sympathetic tone?. *Circulation research*, 70(3), 607–611.
167. Schwarz, P. M., Kleinert, H., & Förstermann, U. (1999). Potential functional significance of brain-type and muscle-type nitric oxide synthase I expressed in adventitia and media of rat aorta. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 19(11), 2584–2590.
 168. Shaw, G., Boyd, K. T., Burke, L. M., & Koivisto, A. (2014). Nutrition for swimming. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 24(4), 360–372.
 169. Smith O. (1998). Nobel Prize for NO research. *Nature medicine*, 4(11), 1215.
 170. Solich-Talanda, M., Żebrowska, A., Mikołajczyk, R., Kostorz-Nosal, S., Ziora, D., Jastrzębski, D., & Siermontowski, P. (2021). Effect of Apnea-Induced Hypoxia on Cardiovascular Adaptation and Circulating Biomarkers of Oxidative Stress in Elite Breath-Hold Divers. *Frontiers in physiology*, 12, 726434.
 171. Song, B. K., Saavedra, J. M., Lefferts, E. C., Brellenthin, A. G., & Lee, D. C. (2022). Associations between cardiorespiratory fitness and diverticulitis in older adults. *PloS one*, 17(9), e0275433.
 172. Stamler, J. S., Jarak, O., Osborne, J., Simon, D. I., Keaney, J., Vita, J., Singel, D., Valeri, C. R., & Loscalzo, J. (1992). Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of

- serum albumin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(16), 7674–7677.
173. Stephens T. (1988). Physical activity and mental health in the United States and Canada: evidence from four population surveys. *Preventive medicine*, 17(1), 35–47.
 174. Strijdom, H., Chamane, N., & Lochner, A. (2009). Nitric oxide in the cardiovascular system: a simple molecule with complex actions. *Cardiovascular journal of Africa*, 20(5), 303–310.
 175. Stuehr D., J. (1997). Structure-function aspects in the nitric oxide synthases. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 37, 339–359.
 176. Stuehr, D. J., Haque, M. M. (2019). Nitric oxide synthase enzymology in the 20 years after the Nobel Prize. *British journal of pharmacology*, 176(2), 177–188.
 177. Sultana, R., Poon, H. F., Cai, J., Pierce, W. M., Merchant, M., Klein, J. B., Markesbery, W. R., & Butterfield, D. A. (2006). Identification of nitrated proteins in Alzheimer's disease brain using a redox proteomics approach. *Neurobiology of disease*, 22(1), 76–87.
 178. Sun, D., Huang, A., & Kaley, G. (2004). Mechanical compression elicits NO-dependent increases in coronary flow. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 287(6), H2454–H2460.
 179. Susswein, A. J., Katzoff, A., Miller, N., & Hurwitz, I. (2004). Nitric oxide and memory. *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 10(2), 153–162.

180. Tannenbaum, S. R., Sinskey, A. J., Weisman, M., & Bishop, W. (1974). Nitrite in human saliva. Its possible relationship to nitrosamine formation. *Journal of the National Cancer Institute*, 53(1), 79–84.
181. Tatchum-Talom, R., Schulz, R., McNeill, J. R., & Khadour, F. H. (2000). Upregulation of neuronal nitric oxide synthase in skeletal muscle by swim training. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 279(4), H1757–H1766.
182. Tesch, P. A., & Karlsson, J. (1985). Muscle fiber types and size in trained and untrained muscles of elite athletes. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 59(6), 1716–1720.
183. Teyler, T. J., & DiScenna, P. (1987). Long-term potentiation. *Annual Review of Neuroscience*, 10, 131–161.
184. Toda, N., Ayajiki, K., & Okamura, T. (2009). Cerebral blood flow regulation by nitric oxide: recent advances. *Pharmacological reviews*, 61(1), 62–97.
185. Toyoda, M., Saito, H., & Matsuki, N. (1996). Nitric oxide but not carbon monoxide is involved in spatial learning of mice. *Japanese journal of pharmacology*, 71(3), 205–211.
186. Tricoire, L., Vitalis, T. (2012). Neuronal nitric oxide synthase expressing neurons: a journey from birth to neuronal circuits. *Frontiers in neural circuits*, 6, 82.
187. Tsukamoto, H., Suga, T., Ishibashi, A., Takenaka, S., Tanaka, D., Hirano, Y., Hamaoka, T., Goto, K., Ebi, K., Isaka, T., & Hashimoto, T. (2018). Flavanol-rich cocoa consumption enhances exercise-

- induced executive function improvements in humans. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif.), 46, 90–96.
188. Turgay, F., Ogun, M., Ogun, M., Sişman, A.R., Colakoglu, M. (2019). The Effects of Swimming on Blood Nitric Oxide and Haematological Parameters. *Turkish Journal of Sports Medicine*. 54. 24-32.
 189. Vallance, P., Patton, S., Bhagat, K., MacAllister, R., Radomski, M., Moncada, S., & Malinski, T. (1995). Direct measurement of nitric oxide in human beings. *Lancet* (London, England), 346 (8968), 153–154
 190. Vanhatalo A, Bailey SJ, Blackwell JR, Dimenna FJ, Pavey TG, et al. (2010). Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 299(4):1121–31
 191. Vannini, F., Kashfi, K., & Nath, N. (2015). The dual role of iNOS in cancer. *Redox biology*, 6, 334–343.
 192. Veljović, D., Međedović, B., Ostojić, S. (2012). Oporavak vrhunskih sportista - pregled savremenih metoda. *TIMS. Acta*, 6(1), 10-18.
 193. Vincent, S. R., & Kimura, H. (1992). Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience*, 46(4), 755–784.
 194. Wang J. S. (2005). Effects of exercise training and detraining on cutaneous microvascular function in man: the regulatory role of endothelium-dependent dilation in skin vasculature. *European journal of applied physiology*, 93(4), 429–434.

195. Wang, Y., Hong, F., & Yang, S. (2022). Roles of Nitric Oxide in Brain Ischemia and Reperfusion. *International journal of molecular sciences*, 23(8), 4243.
196. Wanivenhaus, F., Fox, A. J., Chaudhury, S., & Rodeo, S. A. (2012). Epidemiology of injuries and prevention strategies in competitive swimmers. *Sports health*, 4(3), 246–251.
197. Watson, R., Preedy, V., Zibadi, S. (2013). *Chocolate in Health and Nutrition*. Humana Press (Springer). Pg: 449-456.
198. Wennmalm, A., Benthin, G., Edlund, A., Jungersten, L., Kieler-Jensen, N., Lundin, S., Westfelt, U. N., Petersson, A. S., & Waagstein, F. (1993). Metabolism and excretion of nitric oxide in humans. An experimental and clinical study. *Circulation research*, 73(6), 1121–1127.
199. Wiecek, M., Szygula, Z., Gradek, J., Kusmierczyk, J., & Szymura, J. (2021). Whole-Body Cryotherapy Increases the Activity of Nitric Oxide Synthase in Older Men. *Biomolecules*, 11(7), 1041.
200. Wightman, E. L., Haskell-Ramsay, C. F., Thompson, K. G., Blackwell, J. R., Winyard, P. G., Forster, J., Jones, A. M., & Kennedy, D. O. (2015). Dietary nitrate modulates cerebral blood flow parameters and cognitive performance in humans: A double-blind, placebo-controlled, crossover investigation. *Physiology & behavior*, 149, 149–158.
201. Wink DA & Feelisch M. Formation and Detection of Nitroxyl and Nitrous Oxide. In *Methods in nitric oxide research* (ed. Feelisch M. and Stamler J.S.), pp. 403-412. John Wiley & Sons, New York, Toronto, Singapore, 1996.

202. Wink, D. A., & Mitchell, J. B. (1998). Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free radical biology & medicine*, 25(4-5), 434–456.
203. Wink, D. A., & Mitchell, J. B. (1998). Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free radical biology & medicine*, 25(4-5), 434–456.
204. World Health Organization (2017). *Preventing Drowning: An Implementation Guide*; World Health Organization: Geneva, Switzerland.
205. Worrall, N. K., Misko, T. P., Sullivan, P. M., Hui, J. J., Rodi, C. P., & Ferguson, T. B., Jr (1996). Corticosteroids inhibit expression of inducible nitric oxide synthase during acute cardiac allograft rejection. *Transplantation*, 61(2), 324–328.
206. Wu, Jia-Ping. (2022). Swimming Exercise-Induced Improvements in Cardiorespiratory Fitness (CRF) are Caused by Nitric Oxide Functional Adaptations in the Oxygen Transport System. 10.5772/intechopen.109306.
207. Wylie, L. J., Ortiz de Zavallos, J., Isidore, T., Nyman, L., Vanhatalo, A., Bailey, S. J., & Jones, A. M. (2016). Dose-dependent effects of dietary nitrate on the oxygen cost of moderate-intensity exercise: Acute vs. chronic supplementation. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 57, 30–39.
208. Zaborova, V. A., Butenko, A. V., Shekhter, A. B., Fayzullin, A. L., Pekshev, A. V., Serejnikova, N. B., Chigrintseva, O. V., Kryuchkova,

- K. Y., & Gurevich, K. G. (2023). Nitric oxide therapy is beneficial to rehabilitation in professional soccer players: clinical and experimental studies. *Medical gas research*, 13(3), 128–132.
209. Zhang S, Chen J, Wang S. Spatial learning and memory induced by regulation of nitric oxide producing neurons in the brain. *Brain Res* 1998; 801: 101-6.
210. Zhang, J., & Snyder, S. H. (1995). Nitric oxide in the nervous system. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 35, 213–233.
211. Zhao, Y., Vanhoutte, P. M., & Leung, S. W. (2015). Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of pharmacological sciences*, 129(2), 83–94.
212. Zweier, J. L., Wang, P., Samouilov, A., & Kuppusamy, P. (1995). Enzyme-independent formation of nitric oxide in biological tissues. *Nature medicine*, 1(8), 804–809.
213. Јевтић, Б. (2011). *Пливање у настави*. Београд: Факултет спорта и физичког васпитања.
214. Полети, Дејан (2011). *Општа хемија 2. Хемија елемената*. Београд: Технолошко-металуршки факултет.
215. Пфендт, П. (2009): *Хемија животне средине 1*. Београд: Завод за уџбенике.
216. Солдатовић, Т., Бугарчић, Ж. (2011). Хемија нитрозила. Хемијски Преглед, 52(4), стр. 98-101.
217. Цветковић Д., Лакушић Д., Матић Г., Кораћ А., Јовановић С. (2011) *Биологија за четврти разред гимназије природно-математичког смера*, Београд: Завод за уџбенике.

218. Црнојевић, Ц. (2018). *Механика флуида*. Београд: Машински факултет Универзитета у Београду.