

NEURODEGENERATION AND NO

KLUCHOVA D

NEURODEGENERÁCIA A NO

Abstract

Kluchova D:
Neurodegeneration and NO
Bratisl Lek Listy 1999; 100 (3): 144–148

NO appears to play a significant role in the physiological processes of many of the body's systems. This review examines the present molecular, physiological and pathological knowledge related to NO and its clinical implications.

The role of NO in pathophysiology of diseases is not yet fully elucidated. It is still unclear whether alterations in NO production, release and degradation are primary events in pathological processes. The presented work deals with neurodestructive and neuroprotective effects of NO. The hypothesis suggests that under physiological conditions NO acts as a neuronal messenger molecule. In pathological conditions, with excessive NO release, NO may function as a cytotoxic molecule being involved in several neurodegenerative processes. The most important issue associated with NO research will be to elucidate the cellular and molecular mechanisms of NO action. (Fig. 2, Ref. 32.)

Key words: NO, neuroprotection, neurodestruction.

Oxid dusnatý (nitric oxide — NO) je jedným z najmenších biologicky aktívnych messengerových molekúl. Zároveň je to jeden z prvých známych biologických messengerov, ktorý má plynú štruktúru (Dawson a Snyder, 1994). Objav NO ako messengerovej molekuly v nervovom systéme viedol k zmenám v ponímaní tradičných konceptov neurónovej komunikácie.

NO je nekonvenčný neurotransmitter. Väčšina klasických neurotransmitterov vzniká v predstihu, uskladňuje sa v presynaptických zakončeniach neurónu a uvoľňuje sa exocytózou v dôsledku membránovej depolarizácie (Schulman, 1997). Takéto neurotransmitery pôsobia na svoje cieľové bunky cez membránovo viazané receptory. Na rozdiel od týchto klasických neurotransmitterov vzniká NO v bunke podľa potreby a ihneď sa využíva (Bredt a Snyder, 1994). Pretože jeho molekula je malá a elektricky neutrálna, môže NO voľne difundovať cez bunkové membrány a priamo pôsobiť na jednotlivé komponenty vo vnútri cieľovej bunky (Gar-

Abstrakt

Kluchová D.:
Neurodegenerácia a NO
Bratisl. lek. Listy, 100, 1999, č. 3, s. 145–148

NO má dôležitú úlohu pri fyziologických pochodoch v mnohých systémoch organizmu. Predložená práca hovorí o súčasných molekulových, fyziologických a patofyziologických poznatkoch vo vzťahu k NO a o vyvolaných klinických dôsledkoch.

Úloha NO v patofyziológii chorôb ešte stále nie je úplne objasnená. Nie je známe, či zmeny v tvorbe NO, jeho uvoľňovaní a rozpade sú prvotnými príčinami patologického procesu. Táto práca sa zaoberá aj neurodeštruktívnymi a neuroprotektívnymi účinkami NO. Z uvedeného možno konštatovať, že pri fyziologických podmienkach účinkuje NO ako neurotransmitter, ale pri patologických podmienkach sa NO správa ako cytotoxická molekula, ktorej prítomnosť sa potvrdila pri mnohých neurodegeneratívnych ochoreniach. Najdôležitejšou úlohou stále ostáva objasnenie tých bunkových a molekulových mechanizmov, ktoré sprostredkujú účinok NO. (Obr. 2, lit. 32.)

Kľúčové slová: NO, neuroprotektcia, neurodeštrukcia.

thwaite a Boulton, 1994). Jeho účinok je intracelulárny i transcelulárny (Garthwaite, 1995). Receptorom NO je enzým guanylát-cykláza, ktorý sprostredkuje syntézu cyklického guanozínmonofosfátu (cGMP), vyvolávajúcej bunkovú odpoveď (Schulman, 1997). Táto nová forma nervového prenosu nám umožňuje pochopiť funkciu celej skupiny plyných transmitterov (Dawson a Snyder, 1994).

Syntázy oxidu dusnatého (NOS)

NO je produkovaný určitým typom izoenzymov NO (nitric oxide synthase — NOS). Existuje jedna, alebo viac induktívnych NOS (iNOS), ktoré sa vyskytujú v makrofágoch, neutrofiloch, hepatocytoch a v gliových bunkách, a potom najmenej dve odlišné konštitutívne formy (eNOS) vyskytujúce sa v endotelových bunkách a v neurónoch (Kluchová a spol., 1994). Konštitutívne

NOS sú podľa svojej lokalizácie nazvané aj eNOS (endotelová) a nNOS (neurónová). Kým eNOS a nNOS sa v bunke obvykle nachádzajú za fyziologických podmienok, sú Ca^{2+} -závislé a produkujú malé množstvá NO, iNOS sa objavuje ako odozva na imunologické podnety, nie je Ca^{2+} -závislá a produkuje cytotoxické koncentrácie NO (Nathan a Xie, 1994; Yun a spol., 1996).

Aj krátkodobá produkcia NO (100 ms) s jeho krátkym polčasom rozpadu (do 5 s), zapríčini fyziologické účinkovanie NO až do vzdialenosti 100 μ m od miesta vzniku (Kelm a spol., 1988). Za tento čas uvoľnený NO pôsobí asi na 2 milióny synáps (Wood a Garthwaite, 1994). Pri takejto sfére vplyvu NO neprekvapuje, že u neho zaznamenávame širokú škálu fyziologických účinkov. Mnohé z nich sa študovali v niektorých periférnych systémoch (Belai a spol., 1995), sprostredkované tzv. NANC (nonadrenergic noncholinergic) neurotransmisiou. Okrem toho sú známe účinky NO v kontrole regulácie krvného prietoku mozgom (Nyary, 1994) a v kontrole synaptickej plasticity (Dawson a Snyder, 1994; Garthwaite a Boulton, 1995).

Vznik NO

V nervovom systéme sú možné dve odlišné regulácie vzniku NO: v periférnom nervovom systéme (PNS) a v centrálnom nervovom systéme (CNS) (Garthwaite, 1991). V PNS, kde účinkuje ako neadrenergický, necholinergický (NANC) neurotransmitter, sa predpokladá jeho vznik v presynaptickej časti ako odpoveď na inváziu akčných potenciálov a prívlu Ca^{2+} . NO potom difunduje k svojim cieľovým bunkám (Garthwaite, 1991).

V centrálnych glutamatergických synapsách sa ukazuje rozdielne fungovanie NO systému (obr. 1). Z presynaptickej zakončení sa uvoľňuje glutamát a pôsobí na NMDA (N-metyl-D-aspartát) receptory postsynaptickej časti, ktoré dovoľujú influx Ca^{2+} a aktiváciu NOS. Utvorený NO difunduje z bunky a aktivuje solubilnú guanylátcyklázu v najbližších anatomických štruktúrach (Schuman a Madison, 1994).

Intercelulárny účinok NO vyplýva z lokalizácie NOS a guanylátcyklázy v odlišných neurónoch (Southam a Garthwaite, 1991). Túto skutočnosť potvrdzuje aj zistenie, že niektoré neuróny môžu pri vhodných podmienkach buď produkovať NO, alebo odpovedať na jeho účinok zvýšením hladiny cGMP (Southam a Garthwaite, 1991). Vysvetlenie sa ponúka na základe hladiny cytoplazmatického Ca^{2+} .

Tvorba NO v intaktných neurónoch je strikne závislá od Ca^{2+} . Experimenty s izolovanou NOS ukázali, že kým tento enzým je prakticky neaktívny pri normálnej hladine cytoplazmatického Ca^{2+} , t.j. 50 nM, maximálne aktívny je pri hladine Ca^{2+} približne 0,5 μ M (Bredt a Snyder, 1990). Receptor NO — solubilná guanylátcykláza (sGC), je tiež Ca^{2+} -senzitívny enzým, ale je inhibovaný týmto iónom pri takom vysokom rozsahu koncentrácie, ktorý aktivuje NOS (Southam a Garthwaite, 1991). Vzostup hladiny Ca^{2+} na úroveň, ktorá aktivuje NOS, bude zároveň inhibovať sGC. Táto dômyselná schéma je dôležitá pre zabezpečenie produkcie NO na jednom mieste a jeho pôsobenie na mieste inom.

NO ako neurotoxín

Aj keď za normálnych okolností NO sprostredkúva synaptický prenos, v podmienkach nadmernej produkcie môže byť neurotoxický.

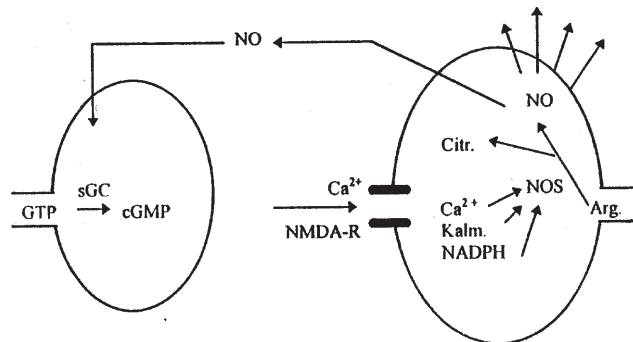


Fig. 1. Schematic illustration of NO production in synapses. Ca^{2+} stimulus exerted through NMDA receptors (NMDA-R) effects calmoduline (Kalm.) and together with NADPH activates NOS. Activated NOS produces NO and citrulline (Citr.) from L-arginine (Arg.). The newly formed NO then diffuses and acts on the neighbouring synapses. NO as a signal molecule acts on soluble guanylatecyclase (sGC), which catalyses the formation of cyclic guanosinemonophosphate (cGMP) from guanosinetriphosphate (GTP). The results of the following cascade of biochemical reactions is the cell response (modified according to Schuman and Madison, 1994).

Obr. 1. Schéma produkcie NO v synapsách. Kalciový podnet (Ca^{2+}) prichádzajúci cez NMDA (N-metyl-D-aspartate) receptory (NMDA-R) pôsobí na kalmodulín (Kalm.) a spolu s NADPH aktivuje NOS. Aktivovaná NOS produkuje z L-arginínu (Arg.) NO a citrulín (Citr.). Vzniknutý NO potom difunduje z miesta svojho vzniku a ovplyvňuje všetky okolité synapsy. NO ako signálna molekula pôsobí na solubilnú guanylátcyklázu (sGC), ktorá katalyzuje vznik cyklického guanozínmonofosfátu (cGMP) z guanozíntrifosfátu (GTP). Po nasledujúcej kaskáde biochemických reakcií je výsledkom bunková odpoveď (upravené podľa Schumana a Madisona, 1994).

Glutamát tvorený v nadbytku účinkuje predovšetkým cez NMDA receptory a spôsobuje neurotoxicitu (obr. 2). Aktivácia NMDA receptorov a následné zvýšenie hladiny intracelulárneho Ca^{2+} má za následok spustenie väčšiny foriem glutamátovej neurotoxicity (Meldrum a Garthwaite, 1990). NMDA aplikovaný v bunkových kultúrach mozgovej kôry len celkom krátko (5 min) dáva do pohybu ireverzibilné procesy končiacie sa smrťou bunky po 12—24 hodinách (Dawson a spol., 1991). Tento typ toxicity súvisí s hladinou Ca^{2+} v bunke. Keďže NOS je Ca^{2+} -závislý enzým, vynára sa otázka, či aktivácia NOS súvisí s NMDA neurotoxicitou. Po pridaní inhibítorov NOS je toxicita markantne oslabená (Dawson a spol., 1991, 1993). Podobne sa blokáda toxicity pozoruje v bunkových kultúrach nucleus caudatus a v hipokampe (Dawson a spol., 1993). Ak NO sprostredkúva NMDA neurotoxicitu, potom by aj zložka uvoľňujúca NO mala byť neurotoxická. V bunkových kultúrach mozgovej kôry vystavenej donorom NO sa potvrdila oneskorená neurotoxicita, ktorá mala rovnaký časový priebeh ako NMDA neurotoxicita (Dawson a spol., 1993). Spojitosť medzi neurónmi s aktívnou NOS a NMDA neurotoxicitou poukazuje na skutočnosť, že v uvedenej bunkovej kultúre sú tieto neuróny zdrojom neurotoxického NO (Dawson a spol., 1993).

Neurodeštrukcia či neuroprotektia NO?

Účasť NO v glutamátovej neurotoxicite sa potvrdila v rôznych modelových systémoch, pričom použitie inhibítorov NOS po predchádzajúcom pôsobení excitčných aminokyselín viedlo k zvýše-

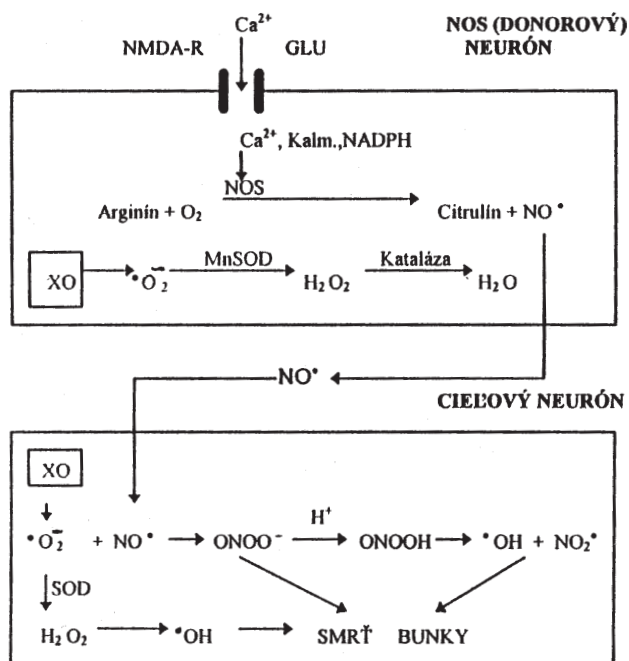


Fig. 2. NO as a neurotoxin. Overproduction of NO is mediated by glutamate (GLU) stimulation of NMDA receptors (NMDA-R). Being formed during the presence of Ca^{2+} , calmoduline (Kalm.) and NADPH, NO freely diffuses to the neighbouring target neurons. There it reacts with the superoxide anion (O_2^-), produced by xanthine oxidase (XO). As a result, peroxynitrite anion (ONOO^-), strong toxic oxidant is formed. ONOO^- being protonated gives rise to nitrate (ONOOH), which decomposes to hydroxyl free radical (OH^\bullet) and nitrogen dioxide free radical (NO_2^\bullet). Even though NO itself can act as a toxin (e.g. by inhibiting mitochondrial respiration), the reaction of peroxynitrite may be more substantial for cell death because superoxide dismutase (SOD) reduces the NMDA neurotoxicity. NOS (donor) neurons work as "killers" for their neighbour cells, but they possess some factors allowing them to survive in NO environment. Protective function can have also diaphorase part of the enzyme, i. e. the part responsible for the identity of NOS and NADPH-diaforase visible after histochemical staining (Hope et al., 1991). NOS neurons are enriched with manganese superoxide dismutase (Mn SOD) which inhibits formation of ONOO^- and in that way allows these cells to survive (modified according to Dawson et al., 1992).

Obr. 2. NO ako neurotoxín. Nadmerná tvorba NO je sprostredkovaná glutamátovou (GLU) stimuláciou NMDA receptorov (NMDA-R). NO po svojom vzniku za prítomnosti Ca^{2+} , kalmodulínu (Kalm.) a NADPH, voľne difunduje k príslušným cieľovým neurónom. Tam reaguje so superoxidovým aniónom (O_2^-) vzniknutým prostredníctvom xantinoxidázy (XO). Vzniká tak peroxynitritový anión (ONOO^-), silne toxický oxidant. ONOO^- po reakcii s H^+ dáva vznik nitrátu (ONOOH), ktorý sa rozkladá na hydroxylový voľný radikál (OH^\bullet) a na nitrogén dioxidový (NO_2^\bullet) voľný radikál. Aj keď sám NO môže účinkovať ako toxín (napr. inhibovaním mitochondriálnej respirácie), reakcia peroxynitritu môže byť významnejšou cestou k smrti bunky, pretože superoxididismutáza (SOD) zmiernuje NMDA neurotoxicitu. Neuróny s aktívnou NOS (donorové) plnia funkciu „vražedných neurónov“, pričom majú určité faktory, ktoré im dovoľujú prežiť v NO prostredí. Protektívnu úlohu môže plniť aj diaforázová časť enzýmu, t.j. tá časť, ktorá je zodpovedná za identitu enzýmu NOS a NADPH-diaforázy pri jeho histochemickom dokazovaní (Hope a spol., 1991). Neuróny, ktoré majú NOS, sú obohatené o mangánovú superoxididismutázu (Mn-SOD), ktorá zabráňuje tvorbe ONOO^- , a teda umožňuje týmto bunkám prežiť (upravené podľa Dawsona a spol., 1992).

nej neuroprotekcii (Dawson a spol., 1992). NO môže chrániť neuróny aj pred glutamátovou neurotoxicitou, keď sú bunky vystavené účinku NO pred pôsobením glutamátu. Nedávne práce poukazujú na to, že NO môže mať aj neurodeštruktívne aj neuroprotektívne vlastnosti v závislosti od jeho oxidačno-redukčného stavu (redoxného mileau). NO radikál (NO^\bullet) je neurodeštruktívny, kým NO^+ je neuroprotektívny (Lipton a spol., 1993). Pre poznanie neuroprotektívnych faktorov je dôležité určiť miesta účinku NO. Cytoplazmová guanýlátcykláza (sGC) je známa ako cieľové miesto NO a sprostredkúva mnoho fyziologických účinkov NO (Szabo, 1996; Garthwaite a Boulton, 1995). Ani inhibítory sGC, ani analógy cGMP však neovplyvňujú NMDA, alebo NO neurotoxicitu (Dawson a spol., 1993). Je málo pravdepodobné, že aktivácia sGC a vzostup hladiny intracelulárneho cGMP má úlohu v genéze neurotoxicity. Skôr je možné, že toxickým činiteľom je tu peroxynitrit (ONOO^-), ktorý vzniká reakciou NO so superoxidovým aniónom (O_2^-) (Beckman, 1991) (obr. 2). Peroxynitrit je vysoko reaktívna molekula s potenciálnymi oxidačnými vlastnosťami (Radi a spol., 1991).

Toxicitu však môžu spôsobiť aj iné mechanizmy. Oba radikály, NO aj peroxynitrit môžu reagovať s DNA a zapríčiniť jej poškodenie (Zhang a spol., 1994). Účinky voľných radikálov vplyvajú aj na funkciu mitochondrií, čo má za následok pokles energetickej produkcie. V konečnom dôsledku zlyhávajú energeticky závislé procesy a bunka zomiera (Dawson a spol., 1992).

Keďže glutamát svojim účinkom cez NMDA receptory stimuluje tvorbu NO, bolo by možné logicky odvodiť, že neuróny s aktívnou NOS budú patriť medzi prvé, ktoré podľahnú NMDA receptorovej stimulácii. Tieto neuróny sú však dokázateľne rezistentné voči NMDA a NO neurotoxicite (Koh a Choi, 1988; Maršala a spol., 1997). Doteraz nie je známe, čo je príčinou tejto rezistencie. Neuróny s aktívnou NOS pravdepodobne majú protektívne faktory, ktoré im poskytujú relatívnu rezistenciu voči toxickému NO prostrediu, ktoré samy vytvárajú (Wink a spol., 1996). Jedným z nich môže byť aj prítomnosť NADPH-diaforázy (NADPH-d). Aj mangánová superoxididismutáza (Mn-SOD), ktorá pôsobí preventívne pri tvorbe toxického peroxynitritu, môže spôsobovať rezistenciu neurónov s aktívnou NOS voči účinkom NO (Inagaki a spol., 1991). Inou možnosťou je, že NO rýchle difunduje z takýchto neurónov do okolia pozdĺž koncentračného gradientu, a týmto spôsobom chráni neurón pred toxickými účinkami jeho vlastného produktu — NO. Okrem týchto uvedených možností sa však zdá, že neuróny s aktívnou NOS majú ešte aj iné ochranné mechanizmy, ktoré doteraz nie sú známe (Yun a spol., 1996).

Experimenty, ktorých cieľom je určiť úlohu NO v neurotoxicite, poskytujú dôkazy siahajúce od jeho protektívnych účinkov, cez žiadne účinky, až k účinkom toxickým. Takýto nesúlad môže vzniknúť v dôsledku niekoľkých príčin.

1. Závery môžu byť výsledkom neštandardných techník a príprav experimentov. Odlišné populácie buniek môžu byť odlišne senzitívne voči NO. Aj odlišný pomer rôznych typov buniek (neurónov a glie) v rôznych skúmaných vzorkách môže prispievať k spomenutým nezrovnalostiam. Aj metódy a doba aplikácie donorov NO a inhibitorov NOS môže mať nemalý význam.

2. Existuje viac mechanizmov, ktoré môžu sprostredkovať glutamátom vyvolanú toxicitu. NO sa môže zúčastňovať na neurotoxicite, ale neurodegenerácia môže postupovať aj v neprítomnosti NO, cestou iných paralelných mechanizmov (Schuman a Madison, 1994).

3. Sám NO môže preukazovať viaceré často protichodné účinky, ktoré závisia od dĺžky jeho pôsobenia, alebo od jeho koncentrácie pri aplikácii. Presnejšia definícia úlohy NO v cytotoxicite sprostredkovanvej glutamátom, alebo inými faktormi, si vyžiada ďalšie experimenty, pri ktorých sa zväžia aj uvedené dôvody.

Úlohy NO pri neurodegenerácii

NO nepochybne má významnú úlohu pri neurodegeneratívnych ochoreniach a iných formách neurotoxicity. Svoju účasť potvrdzuje pri patogenéze AIDS demencie, pretože neurotoxicita indukovaná HIV-proteínom je spôsobená aktiváciou NOS (Lipton, 1992). Patogenetickú úlohu má NO aj pri multiplexnej skleróze (DeGroot a spol., 1997). Podobne sa zistila účasť NOS v CNS počas ochorenia rôznymi vírusovými infekciami, ako sú toxoplazmóza (Gazzinelli a spol., 1993), besnota, aj pri experimentálnej alergickej encefalomyelitíde (Van Dam a spol., 1995; Okuda a spol., 1997) a pneumokokovej meningitíde (Koedel a spol., 1995). Zvýšená senzitivita na NO sa potvrdila aj u pacientov s migrénami (Thomsen a spol., 1993). Účasť NO pri bolesti potvrdili Meller a spol. (1992). Vzostup NOS sa pozoroval aj po poškodení CNS (Vizzard a spol., 1995, 1997). Práce mnohých autorov potvrdzujú produkciu NO v priebehu ischémie, alebo po ischémii CNS (Shibata a spol., 1996; Nakashima a spol., 1995).

Na zapojenie NO do iných chorobných procesov poukazuje aj rezistencia neurónov s aktívnou NOS, ktoré ukazujú NADPH-d pozitivitu, ako napríklad pri Huntingtonovej chorobe (Ferrante a spol., 1985), po poškodení kyselinou chinolínovou (Beal a spol., 1986; Koh a spol., 1986), pri Alzheimerovej chorobe (Hyman a spol., 1992) a pri ischémii (Maršala a spol., 1997). Účasť NO pri usmrcovaní buniek (Wu, 1993) svedčí o zapojení NO do procesu glutamátom navodenej toxicity (Hibbs a spol., 1988). Rezistencia neurónov s aktívnou NOS a účasť NO pri usmrcovaní buniek sú však odlišné skutočnosti. Tieto rozdielne zistenia vedú autorov k rozdielnym záverom: niektoré výsledky potvrdzujú, že NO je neuroprotektívny činiteľ, kým iné dokazujú, že je to neurotoxický faktor.

Vyriešiť túto dilemu by pomohla hypotéza, podľa ktorej:

— pri fyziologických podmienkach neuróny s aktívnou NOS produkujú NO ako neurotransmitter, ktorý v príslušných bunkách zvyšuje hladinu cGMP bez toxicity,

— pri patologických podmienkach, v prítomnosti vysokých, toxických hladín glutamátu neuróny s aktívnou NOS produkujú také veľké množstvo NO, ktoré usmrčuje okolité neuróny.

Záver

NO spôsobil prevratnú zmenu v našom myslení o neurotransmisii a neurónovom vysielaní signálov. NO vystupuje ako dôležitý regulátor v celej škále fyziologických procesov. V podmienkach nadmernej, alebo nevhodnej tvorby je NO dôležitým mediátorom poškodenia nervového tkaniva. Poznanie a pochopenie tých účinkov NO, ktoré prispievajú k neuropatologickým procesom, dáva nádej na objavenie selektívnych terapeutických prípravkov a na dôkladnejšie porozumenie základných procesov fyziologických a patologických funkcií neurónov.

Literatúra

Beal M.F., Kowall N.W., Ellison D.W., Mazurek M.F., Swartz K.J., Martin J.B.: Replication of the neurochemical characteristics of Huntington disease by quinolinic acid. *Nature*, 321, 1986, s. 168—171.

Beckman J.S.: The double-edged role of nitric oxide in brain function and superoxide-mediated injury. *J. Develop. Physiol.*, 15, 1991, s. 53—59.

Belai A., Cooper G., Burnstock G.: Effect of age on NADPH-diaphorase — containing myenteric neurones of rat ileum and proximal colon. *Cell Tissue Res.*, 279, 1995, s. 379—383.

Bredt D.S., Snyder S.H.: Isolation of nitric oxide synthase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 1990, s. 682—685.

Bredt D.S., Snyder S.H.: Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Ann. Rev. Biochem.*, 63, 1994, s. 175—195.

Dawson V.L., Dawson T.M., London E.D., Bredt D.S., Snyder S.H.: Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 1991, s. 6368—6371.

Dawson T.M., Dawson V.L., Snyder S.H.: A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Ann. Neurol.*, 32, 1992, s. 297—311.

Dawson V.L., Dawson T.M., Bartley D.A., Uhl G.R., Snyder S.H.: Mechanisms of nitric oxide mediated neurotoxicity in primary brain cultures. *J. Neurosci.*, 13, 1993, s. 2651—2661.

Dawson T.M., Snyder S.H.: Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain. *J. Neurosci.*, 14, 1994, s. 5147—5159.

DeGroot C.J.A., Ruuls S.R., Theeuwes J.W.M., Dukstra C.D., Vander Valk P.: Immunocytochemical characterization of the expression of inducible and constitutive isoforms of nitric oxide synthase in demyelinating multiple sclerosis lesions. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 56, 1997, s. 10—20.

Ferrante R.J., Kowall N.W., Beal M.F., Richardson E.P.Jr., Bird E.D., Martin J.B.: Selective sparing of a class of striatal neurons in Huntington's disease. *Science*, 230, 1985, s. 561—563.

Garthwaite J.: Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci.*, 14, 1991, s. 60—67.

Garthwaite J.: Neural nitric oxide signalling. *Trends Neurosci.*, 18, 1995, s. 51—52.

Garthwaite J., Boulton C.L.: Nitric oxide signalling in the central nervous system. *Ann. Rev. Physiol.*, 57, 1995, s. 683—706.

Gazzinelli R.T., Eltoun I., Wynn T.A., Sher A.: Acute cerebral toxoplasmosis is induced by in vivo neutralization of TNF- α and correlates with the downregulated expression of inducible nitric oxide synthase and other markers of macrophage activation. *J. Immunol.*, 151, 1993, s. 3672—3681.

Hibbs J.B., Taintor R.R., Vavrin Z., Rachlin E.M.: Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 157, 1988, s. 87—94.

Hope B.T., Michael G.J., Knigge K.M., Vincent S.R.: Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 1991, s. 2811—2814.

Hyman B.T., Marzloff K., Wenniger J.J.: Relative sparing of nitric oxide synthase-containing neurons in the hippocampal formation in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.*, 32, 1992, s. 818—820.

- Inagaki S., Suzuki K., Taniguchi N., Takagi H.:** Localization of Mn-superoxide dismutase (MnSOD) in cholinergic and somatostatin-containing neurons in the rat neostriatum. *Brain Res.*, 549, 1991, s. 174–177.
- Kelm M., Feelish M., Sphar R.:** Quantitative and kinetic characterization of nitric oxide and EDRF release from cultured endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988, 154, s. 237–244.
- Kluchová D., Kočíšová M., Petříčková I., Mirossay L.:** Oxid dusíka a jeho účinky v organizme. *Slov. Lek.*, 10, 1994, s. 18–22.
- Koedel U., Bernatowicz A., Paul R., Frei K., Fontana A., Pfister H.W.:** Experimental pneumococcal meningitis: Cerebrovascular alterations, brain edema, and meningeal inflammation are linked to production of nitric oxide. *Ann. Neurol.*, 37, 1995, s. 313–323.
- Koh J.Y., Peters S., Choi D.W.:** Neurons containing NADPH-diaphorase are selectively resistant to quinolinate toxicity. *Science*, 234, 1986, s. 73–76.
- Koh J.Y., Choi D.W.:** Vulnerability of cultured cortical neurons to damage by excitotoxins: differential susceptibility of neurons containing NADPH-diaphorase. *J. Neurosci.*, 8, 1988, s. 2153–2163.
- Lipton S.A.:** Models of neuronal injury in AIDS: Another role for the NMDA receptor? *Trends Neurosci.*, 15, 1992, s. 75–79.
- Lipton S.A., Choi Y.B., Pan Z.-H., Lei S.Z., Vincent Chen H.S., Sucher N.J., Loscalzo J., Singel D.J., Stamler J.S.:** A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*, 364, 1993, s. 626–632.
- Maršala J., Kluchová D., Maršala M.:** Spinal cord gray matter layers rich in NADPH diaphorase positive neurons are refractory to ischemia-reperfusion-induced injury: a histochemical and silver impregnation study in rabbit. *Exp. Neurol.*, 145, 1997, s. 165–179.
- Meldrum B., Garthwaite J.:** Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends Pharmacol. Sci.*, 11, 1990, s. 379–387.
- Meller S.T., Pechman P.S., Gebhart G.F., Maves T.J.:** Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in the rat. *Neuroscience*, 50, 1992, s. 7–10.
- Nakashima M.N., Yamashita K., Kataoka Y., Yamashita Y.S., Niwa M.:** Time course of nitric oxide synthase activity in neuronal, glial and endothelial cells of rat striatum following focal cerebral ischemia. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 15, 1995, s. 341–349.
- Nathan C., Xie Q.:** Nitric oxide synthases: Roles, tolls and controls. *Cell*, 78, 1994, s. 915–918.
- Nyary I.:** Major role of nitric oxide in the mediation of regional CO₂ responsiveness of the cerebral and spinal cord vessels of the cat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1994, č. 14, s. 49–58.
- Okuda Y., Sakoda S., Fujimura H., Yanagihara T.:** Nitric oxide via an inducible isoform of nitric oxide synthase is a possible factor to eliminate inflammatory cells from the central nervous system of mice with experimental allergic encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.*, 73, 1997, s. 107–116.
- Radi R., Beckman J.S., Bush K.M., Freeman B.A.:** Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J. Biol. Chem.*, 226, 1991, s. 4244–4250.
- Shibata M., Araki N., Hamada J., Sasaki T., Shimazu K., Fukuuchi Y.:** Brain nitrite production during global ischemia and reperfusion: an in vivo microdialysis study. *Brain Res.*, 734, 1996, s. 86–90.
- Schulman H.:** Nitric oxide: a spatial second messenger. *Mol. Psychiatry*, 2, 1997, s. 269–299.
- Schuman E.M., Madison D.V.:** Nitric oxide and synaptic function. *Ann. Rev. Neurosci.*, 17, 1994, s. 153–183.
- Southam E., Garthwaite J.:** Intracellular action of nitric oxide in adult rat cerebellar slices. *NeuroReport*, 2, 1991, s. 658–660.
- Szabo C.:** Physiological and pathophysiological roles of nitric oxide in the central nervous system. *Brain Res. Bull.*, 41, 1996, s. 131–141.
- Thomsen L.L., Iversen H.K., Brinck T.A., Olesen J.:** Arterial supersensitivity to nitric oxide (nitroglycerin) in migraine sufferers. *Cephalgia*, 13, 1993, s. 395–399.
- Van Dam A.M., Bauer A., Man-A-Hing W.K., Marquette C., Tilders F.J., Berkenbosch F.:** Appearance of inducible nitric oxide synthase in the rat central nervous system after rabies virus infection and during experimental allergic encephalomyelitis but not after peripheral administration of endotoxin. *J. Neurosci. Res.*, 40, 1995, s. 251–260.
- Vizzard M.A., Erdman S.L., DeGroat W.C.:** Increased expression of neuronal nitric oxide synthase (NOS) in visceral neurons after nerve injury. *J. Neurosci.*, 1995, č. 15, s. 4033–4045.
- Vizzard M.:** Increased expression of neuronal nitric oxide synthase in bladder afferent and spinal neurons following spinal cord injury. *Dev. Neurosci.*, 19, 1997, s. 232–246.
- Wink D.A., Cook J.A., Pacelli R., DeGraff W., Gamson J., Liebmann J., Krishna M.C., Mitchell J.B.:** The effect of various nitric oxide — donor agents on hydrogen peroxide-mediated toxicity: A direct correlation between nitric oxide formation and protection. *Arch. Biochem. Biophys.*, 331, 1996, s. 241–248.
- Wood J., Garthwaite J.:** Models of diffusional spread of nitric oxide: Implications for neural nitric oxide signalling and its pharmacological properties. *Neuropharmacology*, 33, 1994, s. 1235–1244.
- Wu W.:** Expression of nitric-oxide synthase (NOS) in injured CNS neurons as shown by NADPH diaphorase histochemistry. *Exp. Neurol.*, 120, 1993, s. 153–159.
- Yun H.Y., Dawson V.L., Dawson T.M.:** Neurobiology of nitric oxide. *Crit. Rev. Neurobiol.*, 10, 1996, s. 291–316.
- Zhang J., Dawson V.L., Dawson T.M., Snyder S.H.:** Nitric oxide activation of poly(ADP-ribose) synthetase in neurotoxicity. *Science*, 263, 1994, s. 687–689.

Do redakcie došlo 4.11.1997.