

Nitrik Oksit ve Nörofizyopatolojik Etkileri

NITRIC OXIDE AND ITS NEUROPHYSIOPATHOLOGICAL EFFECTS

M. Arif ALADAĞ*, Yusuf TÜRKÖZ**, İbrahim Halil ÖZEROL***

* Yrd.Doç.Dr., İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji AD,

** Yrd.Doç.Dr., İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,

*** Doç.Dr., İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, MALATYA

Özet

Nitrik oksit (NO), zehirli serbest radikal bir gazdır. Organizmanın bir çok işlevinde ve birçok hastalık durumunda rol alır. Hemen hemen her hücre tarafından üretilir ve her hücre üzerine etkinlik gösterir. Bu nedenle, NO genel aracı bir moleküldür.

Diğer serbest oksijen radikalleri her konsantrasyonda zararlı iken, NO düşük konsantrasyonlarda kan basıncı ve sindirim sisteminin düzenlenmesinden konak savunması ve özgül olmayan immünitete kadar bir çok önemli fizyolojik olayların düzenlenmesinde rol oynar. Ancak, uygunsuz yerde ve aşırı miktarda üretildiğinde, bir çok patolojik durumun ortaya çıkmasına neden olur.

Anahtar Kelimeler: Nitrik oksit, Nitrik oksit sentaz, NO, NOS

T Klin Tıp Bilimleri 2000, 20:107-111

Summary

Nitric oxide (NO) is a poisonous free radical gas. It plays a role in many functions of human organism, and in many diseases. NO is produced by almost every cell and has effects on different cells. Therefore, it acts as a general transmitter.

While the other free oxygen-radicals are harmful in every concentration, low levels of NO plays regulatory role in many physiological processes such as blood pressure, gastrointestinal system functions, host defence, and nonspecific immunity. However, NO causes many pathological conditions when it is produced at inappropriately localizations and in high quantity.

Key Words: Nitric oxide, Nitric oxide synthase, NO, NOS

T Klin J Med Sci 2000, 20:107-111

Küçük molekül ağırlıklı ve heterodiatomik moleküllü, zehirli bir gaz olan NO, daha önce endotel kaynaklı gevşeme faktörü olarak bildirilen maddenin NO olduğunun gösterilmesiyle bilimsel çalışmaların odağı haline geldi. Bu şekilde başlayan NO ile ilgili araştırmalarda 1991'den sonra aşırı derecede artış oldu. Bu çalışmalar sonucunda, fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü hakkında daha fazla bilgi edinilen NO, 1992 yılında yılın molekülü seçildi (1-3).

Lipid ve suda çözünen serbest radikal bir gaz olan NO, NO₂ gibi diğer radikaller, NO₂⁻ gibi orta

derecede stabil anyonlar, NO₃ gibi dayanıklı anyonların yanında, N₂O₃ gibi dayanıksız oksitler ve ONOO⁻ gibi dayanıksız peroksitler oluşturur. Düşük pH'da biriken nitrit (NO₂⁻) proton kazanarak nitroz aside ve daha sonra dismutasyonla NO'e dönüşür. NO tiollerle reaksiyona girerek RSNO gibi depo formlar oluşturur. Bu depo formların bir elektron kaybetmesiyle sülfhidrifilik reaktanlar, nitrosonium oluşur (NO⁺). Bu formların bir çoğu biyolojik olarak bir kaç saniye gibi kısa bir sürede oluşmaktadır (4,5).

Sentez ve İnhibisyon

Paramanyetik serbest bir radikal olan NO, nitrik oksit sentaz (NOS) denilen enzim ailesi tarafından, bir aminoasit olan L-arginin'in terminal guanidin grubunun NO'e çevrilmesiyle üretilir (L-

Geliş Tarihi: 11.10.1999

Yazışma Adresi: Dr.M. Arif ALADAĞ
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nöroşirürji AD, MALATYA

arginin→NO+L-sitrulin). Bu oluşum esnasında moleküler oksijen ile, kofaktör olarak, nikotinamid adenin dinükleotid, (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiopterin (BH₄)'e ihtiyaç vardır. Bu şekilde üretilen ve işlevini yerine getiren NO, hızla hemoglobin, metilen mavisi ve süperoksit anyonu tarafından nötralize edilir veya 10 saniye içinde nitrat veya nitritlere dönüştürülür (6-8).

NOS, fizikokimyasal ve kinetik özelliklerine göre iki gruba (konstitutif ve indüklenebilir) ayrılır. NOS'ları sentezleyen 3 gen bulunur ve bu genlerden herbiri bir NOS izoformunu oluşturur (NOS₁, NOS₂, NOS₃) (9-11).

Sırasıyla kromozom 12 ve 16 tarafından kodlanan, NOS₁ ve NOS₃ fizyolojik şartlarda ilgili reseptörlerin uyarılmasına cevap olarak aktif hale geçerler. Nöronal (nNOS) ve endotelial (eNOS) olarak ta bilinen NOS₁ ve NOS₃, aktif hale gelmek için Ca⁺⁺'a ihtiyaç duyar ve bu nedenle konstitutif NOS olarak adlandırılırlar. "Nöronlardan ve endotelial hücrelerden izole edilen konstitutif NOS'in sentez süresi kısa ve üretilen NO miktarı çok düşüktür. Bunun sebebi, hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonu azalmaya başladığı anda enzimin inaktif duruma geçmesidir (12-14).

Diğerlerinin aksine, hücre içinde bulunmayan NOS₂, kromozom 7 tarafından kodlanır (11,15). Endotoksin ve/veya değişik sitokinlere cevap olarak makrofajlar ve diğer hücre tiplerinin uyarılmasıyla Ca⁺⁺'dan bağımsız olarak salgılanan ve normal şartlarda gösterilemeyen NOS₂'ye indüklenebilir veya uyarılabilir NOS (iNOS) adı verilir. Bu izoforma ayrıca immunolojik NOS de denilmektedir. Özellikle bakteri lipopolisakkaritleri ve interferon-γ (IFNγ) ile uyarılan makrofajlar bol miktarda NO üretirler. Bu şekilde iNOS'le üretilen NO sentezi saatlerce hatta günlerce devam edebilir (5,13,16). NO'nin üretilmesi için gerekli olan L-arginin/NO yolu L-NMMA, L-NA, L-NAA, 7-NI, L-NIO gibi L-arginin analogları ve L-argininin guanidium kısmına benzeyen, bir çok amino asit bileşkesi tarafından inhibe edilebilir. NOS'i inhibe eden bir diğer madde grubu da glukokortikoidlerdir. Tüm izoformlara etki gösteren bu inhibitörlerin izoformlar arasında, kısmen de olsa, bir seçicilikleri vardır (13,17,18).

Fizyolojik ve Fizyopatolojik Etkileri

Temel haberci maddelerden biri olan NO hücre membranını geçerek demir ve/veya sülfür içeren proteinlere bağlanır (19). Özellikle nöronlarda ve damar düz kas hücre membranında bulunan guanilat siklazı aktive eden NO, damar dilatasyonu, sinirlerden uyarı geçişi gibi fonksiyonları gerçekleştirir (20).

NOS₃ (eNOS) tarafından sentezlenen endotel kaynaklı NO, bazal vasküler tonüsün önemli bir belirleyicisidir. Bu şekilde sistemik dolaşımı regüle eden NO, kalp, karaciğer, beyin gibi organların lokal dolaşımlarının düzenlenmesine de katkıda bulunur (21). NOS₃ eksikliği hipertansiyona neden olur. Bu ilişki deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Gerek NOS inhibitörlerinin kullanıldığı, gerekse NOS₃ genlerinin inaktive edildiği deneylerde, ratlarda hipertansiyon geliştirilmiştir. Ama ne yazık ki NOS₃ lokus'u ile esansiyel hipertansiyon arasında, böyle bir ilişkinin gösterildiği genetik linkage çalışmaları henüz yapılmamıştır (22-25). Kronik böbrek yetmezliklerinde dimetilarginin'in plazma konsantrasyonlarının arttığı, bunun NOS'in aktivasyonunu inhibe ederek hipertansiyona neden olduğu tespit edilmiştir (18). Endotel kaynaklı NO'nin damar bütünlüğünün korunması, lökositlerin endotel hücrelerine yapışmasının ve düz kas hücre proliferasyonunun önlenmesi gibi etkilerinin yanında trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe etme etkileri de vardır. Bu yüzden kardiyovasküler hemostazda, kritik rolü olan endotel kaynaklı NO'nin aterogenezi inhibe ettiği söylenebilir. NO bu etkisini, prostasiklinle sinerjistik bir etkileşimle sağlar (26,27). Gerçekten de hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara içme ve diyabet gibi ateroskleroza zemin hazırlayan faktörlerin tümü, anormal endotel fonksiyonları ve biyoaktif NO seviyelerinde azalma ile birlikte. Bu, molekülün gerçek eksikliğine veya oksijen derivesi gerçek radikallerle reaksiyona girerek inaktive olmasına bağlıdır. Bu etkisinden dolayı NO'ü vasküler travma sonrası, proliferatif cevapların inhibe edilmesi, özellikle anjiyoplasti sonrası restenozun önlenmesinde kullanabiliriz.

Trombositler de ayrıca NO sentez ederek, trombosit aktivasyonunun kontrolüne katkıda bulunurlar (28-31). Bu şekilde, kliniklerde nitrovazodilatatörlerin, prostasiklin veya analoglarıyla kombine kullanımının çok etkili bir antitrombotik

tedavi sağlayabileceği beklentisi karşımıza çıkmaktadır.

Sinir sisteminde major izoform olan nNOS tarafından sentez edilen ve merkezi ve periferik sinir sisteminde de aracı madde olarak görev yapan NO, nörokimyasal sistemin önemli bir parçasıdır. NO, merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, sinirsel aktiviteler, serebral kan akımının koordinasyonu ve ağrının hafifletilmesi gibi bir çok fizyolojik fonksiyonda aracı madde olarak rol alır. Ayrıca hafıza ve öğrenme fonksiyonuyla da ilgili olduğuna dair bir çok delil vardır (32-34). Bunun dışında koku alma ve görme işlevinde de rol aldığı tespit edilmiştir (35). Endokrin sistem üzerine yapılan bir çok çalışma, NO'nin hipotalamik-pitüiter aks'ta hormon salınımını düzenlediğini göstermiştir. (36).

Günümüzde artık, nörojenik vazodilatasyonun bazı formlarına aracılık eden, belirli gastrointestinal ve genitouriner fonksiyonları düzenleyen ve önceden nonadrenerjik nonkolinerjik (NANC) olarak bilinen, periferik sinir sisteminde yaygın olarak yerleşmiş bazı sinir ağlarının (Nitrojenik sinirler), NO salgıladıkları bilinmektedir (36-38). NOS, gastrointestinal sistemde mezenterik pleksustaki nöronlarda bulunmaktadır (39). NO hayvanlarda mide içi basınca karşı mideyi dilate ederek, yeni duruma uyumu sağlamakta ayrıca gastrointestinal sistemin sfinkterlerinde gevşemeye yol açarak, bu organların fizyolojik fonksiyonlarının düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır (40). NOS'in pelvik pleksus, kavernal sinir, derin kavernal arterlerin adventisyası ve penis sinüzoidlerinde yüksek konsantrasyonlarda olduğu, NO'nin penis ereksiyonu sağlayan dokularda NANC nörotransmitter olarak görev yaptığı tespit edilmiştir. Bu yüzden erektil impotans tedavisinde NO'nin penis ereksiyon yapıcı etkisinden yararlanılmaktadır. (41,42). Son çalışmalar, serebral kan akımını düzenleyen NO'nin hem endotel hücrelerde, hem de adventisya içindeki otonomik sinirlerden salgılandığını göstermiştir (43).

Sinir sisteminde, nNOS'in yanı sıra, enfektif ve toksik etkilere karşı oluşan glial aktivasyon durumunda oluşan iNOS'in ürettiği NO'nin enfeksiyon ajanlarına karşı mücadelede önemli bir fizyolojik rol oynadığı tespit edilmiştir. Bu şekilde oluşan NOS aktivasyonuna bağlı olarak oluşan NO'nin ayrıca, Parkinson, Alzheimer hastalığı ve multipl

sklerozun patogeneğinde rol oynayabildiği düşünülmektedir (44-46). Yine menenjitte artan NO üretiminin, bu şekilde nörolojik sekellere katkıda bulunduğu tahmin edilmektedir (47).

Düşük konsantrasyonun aksine, yüksek konsantrasyondaki NO, nörotoksik bir döngüyü başlatır (48,49). Fokal iskemi'de, strok'ta, Alzheimer ve Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklarda, NO'nin N-methyl-D-aspartate (NMDA) reseptörlerini etkileyerek ortaya çıkardığı aşırı miktarda glutamat'ın hücre ölümünde etkili olduğunu gösteren kuvvetli deliller vardır. NMDA'nın aktivasyonu muhtemelen intrasellüler kalsiyumda artışa neden olmakta, bu da glutamat nörotoksitesini başlatmaktadır (50). NO, bu tip nörotoksitesinin dışında, merkezi sinir sisteminde oksijen nörotoksitesini, AIDS demansındaki gibi başka tip nörotoksitelere de kısmen aracılık edebilmektedir (44,51).

Ayrıca, NO'nin myelin üreten oligodendrositlere de direkt toksik etki yaparak, merkezi sinir sisteminin inflamatuvar rahatsızlıklarında rol oynadığı söylenmektedir. NO'nin bu etkilerine karşı NOS inhibitörlerinin koruyucu etki yaptığı gösterilmiştir (52). Yapılan bir çalışmada migrenlilerin NO'e aşırı derecede hassas olduğu gösterilmiştir (53).

iNOS vasıtasıyla üretilen makrofaj kaynaklı NO bakteri, parazit ve tümör hücreleri üzerine sitotoksik etki yaparken, DNA ve RNA virüslerinin bazılarının yayılmasını önler. NO bu etkilerini, bazı enzimlerdeki duyarlı demir gruplarına bağlanarak, çoğalmayı sağlayan anahtar metabolik yolların blokajına yol açarak ve oksijen ile birleşip, güçlü hücre toksinleri olan hidroksil radikali ve antioksidanları ortaya çıkararak gösterir. Hücrelerin doğrudan öldürülmesini sağlayan ve intrasellüler viral replikasyonu inhibe edebilen önemli bir aracı madde olması nedeniyle NO'yi doğrudan birincil savunma sistemi olarak kabul edebiliriz. (54-60). Retikuloendotelial sistemle birlikte dolaşımın immünolojik filtreleri gibi görev yapan, karaciğer ve akciğer hücrelerinde de, makrofaj aktivasyonu ve NO sentezi ile doğrudan bağlantılı ve kansere karşı direnci arttıran nonspesifik immün olaylar mevcuttur (8,55).

Değişik otoimmün bozukluklar üzerine yapılan araştırmalarda, lupus, romatoid artrit, osteoartrit gibi vaskülit ve romatizmal hastalıklarda da, NO'nin aşırı miktarda üretildiği saptanmıştır (61-63).

Sonuç

Basit bir molekül olmasına rağmen, genel bir aracı olarak, sağlıklı organizmanın değişik işlevlerinde ve bir çok hastalık durumunda karşımıza çıkan NO'nin biyolojik rolü ve potansiyel tedavi edici etkileri konusunda araştırılması gereken daha çok şey vardır. Bu molekül hakkında ne kadar bilgi edinirsek, sağlıklı ve daha az hastalıklı yaşamak konusunda o kadar yol alırız.

KAYNAKLAR

- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of the endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
- Ignarro LJ, Bugo GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84:9265-9.
- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release account for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327:524-6.
- Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite; implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1620-4.
- Hibbs JB Jr. Overview of cytotoxic mechanism and defence of intracellular environment against microbes. In: Moncada S, Marletta MA, Hibbs JB Jr, eds. *The biology of nitric oxide: Enzymology, biochemistry and immunology*. London: Portland Press. 1992; 2: 201-6.
- Star RA. Nitric oxide. *Am J Med Sci* 1993; 306 (5): 348-58.
- Tayeh MA, Marlette MA. Macrophage oxidation of L-arginine to nitric oxide, nitrite and nitrate: Tetrahydrobiopterin is required as cofactor. *J Biol Chem* 1989; 264: 19654-58.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Reviews* 1991; 43 (9): 109-37.
- Bloch KD, Wolfram JR, Brown DM, Roberts JD Jr, Zapol DG, Lepore JJ, Filippov G, Thomas JE, Jacob HJ, Bloch DB. Three members of the nitric oxide synthase II gene family colocalize to human chromosome 17. *Genomic* 1995; 27: 526-30.
- Michel T, Xie QW, Nathan C. Molecular biological analysis of nitric oxide synthases. In: Feefisch M, Stamler JS, eds. *Molecular biological analysis of nitric oxide synthases in methods in nitric oxide research*. Chichester: Wiley & Sons. 1996: 161-75.
- Mohaupt MG, Elzie JL, Ahn KY, Clapp WL, Wilcox CS, Kone BC. Differential expression and induction of mRNAs encoding two inducible nitric oxide synthases in rat kidney. *Kidney Int* 1994; 46: 653-65.
- Busse R, Fleming I, Schini VB. Nitric oxide formation in the vascular Wall: regulation and functional implications. *Curr Top Microbial Immunol* 1995; 196: 7-18.
- Marletta MA. Approaches toward selective inhibition of nitric oxide synthase. *J Med Chem* 1994; 37: 1899-907.
- Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, controls. *Cell* 1994; 78: 915-8.
- Hibbs JB JR, Taintor RR, Vavrin Z, and Rachlin EM. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 157: 87-94.
- Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol (USA)* 1993; 54 (2): 171-8.
- Moncada S, Higgs A. The L-arginine- nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-12.
- Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-5.
- Ignarro LJ. Nitric oxide: A novel signal transduction mechanism for transcellular communication. *Hypertension (USA)* 1990; 16 (5): 477-83.
- Snyder SH. Nitric oxide: First in a new class of neurotransmitters. *Science* 1992; 257: 494-6.
- Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis (USA)* 1995; 38 (2): 87-104.
- Calver A, Collier J, Moncada S, Vallance P. Effect of local intra-arterial NG-monomethyl -L-arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. *J Hypertens* 1992; 10: 1025-31.
- Luscher TF. Endothelium-derived nitric oxide; the endogenous nitrovasodilator in the human cardiovascular system. *Eur Heart J* 1991; 12: (Suppl E): 2-11.
- Sogni P, Moreau R, Ohsuga M, Cailmail SiOberti F, Hadengue A, Pussard E, Librec D. Evidence for normal nitric oxide-mediated vasodilator tone in cirrhosis. *Hepatology* 1992; 16: 980-3.
- Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990; 323: 27-36.
- Lloyd-Jones DM, Bloch KD. The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis. *Annu Rev Med* 1996; 47: 365-75.
- Klebanoff SJ. Oxygen metabolites from phagocytes. In: Gallin JI, Goldstein IM, Snyderman R, eds. *Inflammation: Basic principles and clinical correlates*. New York: Raven. 1992: 541-88.
- De Graaf JC, Banga JD, Moncada S, Palmer RM, de Groot PG, Sixma JJ. Nitric oxide functions as an inhibitor of platelet adhesion under flow conditions. *Circulations* 1992; 85: 2284-90.
- Redomski MW, Palmer RMS, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987; 2: 1057-58.
- Redomski MW, Palmer RMS, Moncada S. Characterization of the L-arginine: nitric oxide pathway in human platelets. *Br J Pharmacol* 1990; 101: 325-8.
- Varela AF, Runge A, Ignarro LJ, Chaudhuri G. Nitric oxide and prostacycline inhibit fetal platelet aggregation; a response similar to that observed in adults. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167: 1599-604.

32. Garthwaite J. Glutamate nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci* 1991; 14: 60-7.
33. Garthwaite J, Boulton CL. Nitric oxide signalling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 683-706.
34. Snyder SH, Brecht DS. Biological roles of nitric oxide. *Sci Am* 1992; 266:68-71.
35. Olesen J, Thomsen LL, Iversen H. Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. *Trend Pharmacol Sci (England)* 1994; 15 (5):149-53.
36. Gillespie JS, Lyu X, Martin W. The neurotransmitter of the non-adrenergic non-cholinergic inhibitory nerves to smooth muscle of the genital system. In: Moncada S, Higgs EA, eds. *Nitric oxide from L-arginine: A bioregulatory system*. Amsterdam: Elsevier Science Publisher BV, 1990:147-64.
37. Rand MJ. Nitric transmission; nitric oxide as a mediator of non-adrenergic, non-cholinergic neuro-effector transmission. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1992; 19:147-69.
38. Toda N. Nitric oxide and the regulation of cerebral arterial tone. In: Vincent S, ed. *Nitric oxide in the nervous system*. Orlando: Academic Press Ltd. 1995: 207-55.
39. Dawson TM, Brecht DS, Fotuhi M, Hwang PM, Snyder SH. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 7797-801.
40. Tottrup A, Glavind EB, Svane D. Involvement of the L-arginine-nitric oxide pathway in internal anal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 1992; 102: 409-15.
41. Burnett AL, Lowenstein CJ, Brecht DS, Chang TS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science* 1992; 257: 401-3.
42. Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ. Nitric oxide as mediator of the corpus cavernosum in response to non-adrenergic non-cholinergic transmission. *N Engl J Med* 1992; 326: 90-4.
43. Iadecola C, Pelligrino DA, Moskowitz MA, Lassen NA. Nitric oxide synthase, inhibition and cerebro-vascular regulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994; 14: 175-92.
44. Dawson VL, Dawson TM, Uhl GR. Human immunodeficiency virus type 1 coat protein neurotoxicity mediated by nitric oxide in primary cortical cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 3256-59.
45. Kong LY, Wilson BC, Mc Millian MK, Bing G, Hudson PM, Hong JS. The effects of the HIV-1 envelope protein gp120 on the production of nitric oxide and proinflammatory cytokines in mixed glial cell cultures. *Cell Immunol* 1996; 172: 77-83.
46. Bo L, Dawson TM, Weseligh S, Mork S, Choi S, Kong PA, Hanley D, Trapp BD. Induction of nitric oxide synthase in demyelinating region of multiple sclerosis brains. *Ann Neurol* 1994; 36: 778-86.
47. Visser JJ, Scholten RJPM, Hoekman K. Nitric oxide synthesis in meningococcal meningitis. *Ann Int Med* 1994; 120: 345-6.
48. Dawson TM, Snyder SH. Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain. *J Neurosci* 1994; 14: 5147-59.
49. Dawson TM, Dawson VL. Nitric oxide: actions and pathological roles. *Neuroscientist* 1995; 1: 7-18.
50. Meldrum B, Garthwaite J. Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 379-87.
51. Oury TD, Ho YS, Piantadosi CA, Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase, nitric oxide, and central nervous system O₂ toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9715-19.
52. Merrill JE, Ignarro LJ, Sherman MP, Melinek J, Lane TE. Microglial cell cytotoxicity of oligodendrocytes is mediated through nitric oxide. *J Immunol* 1993; 151: 2132-41.
53. Thomsen LL, Iversen HK, Brinck TA. Arterial supersensitivity to nitric oxide (nitroglycerin) in migraine sufferers. *Cephalgia* 1993; 13: 395-99.
54. Kamijo RH, Harada T, Matsuyama M, Bosland J, Gerecitano D, Shapiro J, Le SI, Koh T, Kimura SJ, Green TW, Mal ST. Requirement for transcription factor IRF-1 in NO synthase induction in macrophages. *Science* 1994; 263: 1612-15.
55. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-37.
56. Keller R. The macrophage response to infectious agents; mechanism of macrophage activation and tumour cell killing. *Res Immunol* 1993; 144: 271-73.
57. Farias-Eisner R, Sherman MP, Aerberhard E, Chaudhuri G. Nitric oxide is an important mediator of tumorocidal activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9407-11.
58. Adler HJ, Beland JL, Del-Pan NC, Kobzik L, Brewer JP, Martin TR, Rimm U. Suppression of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) induced pneumonia in mice by inhibition of inducible nitric oxide synthase (iNOS, NOS2). *J Exp Med* 1997; 185: 1533-40.
59. Akaike TI, Weihe M, Schafer M, Fu ZF, Zhang YM, Vogel W, Schmid H. Effect of neurotropic virus infection on neuronal and inducible nitric oxide synthase activity in rat brain. *J Neurovirol* 1995; 1: 118-25.
60. Staebeli P. Interferon-Inducible proteins and the antiviral state. *Adv Virus Res* 1990; 38: 147-200.
61. McInnes IB, Leung BP, Field M, Wei XO, Hueng FP, Sturrock RD, Kinninmonth A, Weidner J, Mumford R, Liew FY. Production of nitric oxide in the synovial membrane of rheumatoid and osteoarthritis patients. *J Exp Med* 1996; 184: 1519-24.
62. StClair EW, Wilkinson WE, Lang T, Sanders L, Misukonis MA, Gilkeron GS. Rheumatoid arthritis patients have increased expression of blood mononuclear cell nitric oxide synthase type 2. *J Exp Med* 1996; 184:1173-8.
63. Clancy RM, Amin AR, Abramson SB. The role of nitric oxide in inflammation and immunity *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1141.