

Azotni oksid, neurodegeneracija i Parkinsonova bolest

Eleonora Džoljić*, Zorica Nešić†, Radan Stojanović†, Nevena Divac†, Zoran Todorović†, Sonja Vučković†, Vladimir Kostić*, Milica Prostran†

Klinički centar Srbije, *Institut za neurologiju, Beograd; Medicinski fakultet, †Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Beograd

K l j u č n e r e č i : azot monoksid; Parkinsonova bolest; neurodegenerativne bolesti.

K e y w o r d s : nitric oxide; Parkinson disease; neurodegenerative disease.

Uvod

Parkinsonova bolest (PB) je progresivno oboljenje zastupljeno u starijem životnom dobu koje se karakteriše poremećajima pokretljivosti. Glavni simptomi bolesti su tremor u mirovanju, koji se najčešće prvo javlja na rukama (tremor „pravljenje pilula“) i značajno se smanjuje prilikom izvođenja voljnih radnji. Zatim su to rigiditet mišića (*rigor*), mišićna hipertoničnost sa povećanim otporom pri pasivnim pokretima ekstremiteta i usporenost voljnih pokreta (hipokinezija), izazvana delimično rigidnošću mišića, a delimično poremećenom inercijom motornog sistema, što znači da je motornu aktivnost teško započeti i zaustaviti (1).

U osnovi PB je oštećenje bazalnih ganglija. Hornykiewicz je neurohemijsko poreklo ove bolesti opisao 1960. godine, kada je postmortalnim ispitivanjem mozga obolelih utvrdio da je koncentracija dopamina u strukturama *substantia nigra* i *corpus striatum* značajno smanjena (< 10% normalne koncentracije). Sniženje koncentracije dopamina posledica je gubitka dopaminergijskih neurona u *substantia nigra* i degeneracije nervnih završetaka u strijatumu. Zabeležena je i snižena koncentracija drugih monoamina i to pre svega noradrenalina (NA) i 5-hidroksitriptamina (5-HT), ali u mnogo manjoj meri od dopamina. Kasnije studije (npr. ispitivanje transporta dopamina u strijatumu pozitronskom emisijom tomografijom) pokazale su da je sniženje koncentracije dopamina u ovim regijama mozga dugotrajan proces i da se simptomi javljaju tek kada se koncentracija dopamina u strijatumu snizi na 20–40% od normalne. Lezije nigrostrijatnog puta ili hemijski indukovani gubitak dopaminergijskih neurona kod eksperimentalnih životinja, takođe, dovodi do razvoja simptoma PB. Simptom koji je

najjasnije vezan za deficit dopamina je hipokinezija. Kod životinja sa lezijom jedara hipokinezija se javlja odmah nakon intervencije i ne menja se tokom vremena. Rigiditet i tremor imaju kompleksniji mehanizam nastanka i pored poremećaja transmisije dopamina vezani su i za promene drugih neurotransmiterskih sistema, delimično acetilholina, NA, 5-HT i gama-aminobuterne kiseline (GABA).

U patogenezi Parkinsonove i Huntingtonove bolesti važnu ulogu imaju holinergički neuroni *corpus striatum*, koji sadrži najviše acetilholina i acetilholinesteraze u mozgu. Dopamin snažno inhibiše oslobađanje acetilholina iz strijatumu i hiperaktivnost holinergičkih neurona (usled nedostatka dopamina) što dovodi do razvoja simptoma PB, dok se hipoaktivnost (usled prezasićenosti dopaminom i sekundarnog deficita GABA) manifestuje hiperkinetičkim pokretima i hipotonijom, simptomima karakterističnim za Huntingtonovu bolest.

Cilj terapije obe bolesti je popravljavanje ravnoteže između dopaminergičke i holinergičke transmisije u centralnom nervnom sistemu (CNS). Veruje se i da je PB posledica dejstva faktora spoljne sredine, mada postoji i hereditarni oblik ove bolesti. Kao i kod drugih neurodegenerativnih bolesti, oštećenje je posledica tri faktora: ekscitotoksičnosti, oksidativnog stresa i apoptoze (1–5).

Uloga azot oksida u neurodegeneraciji i neurodegenerativnim bolestima

Nobelovom nagradom za 1998. godinu nagrađeno je otkriće da azot oksid (NO), gasoviti molekul koji stvara ćelija, prolazi kroz membrane i reguliše funkcije drugih ćelija, što predstavlja potpuno novi princip prenosa signala u

organizmu. Azot oksid je uključen u endotelijum-zavisnu vazodilataciju (4), procese neurotransmisije (3, 5–9), kao i u celularni imunski odgovor u mnogim neurodegenerativnim bolestima (10, 11). Otkrivanje patofizioloških mehanizama u kojima NO ima uticaja raste eksponencijalno u poslednjih nekoliko godina (10–12). Azot oksid je 1992. godine proglašen molekulom godine u časopisu *Science* (13). Rezultati pokazuju da NO poseduje ne samo citoprotektivno već i citotoksično dejstvo (13, 14). U fiziološkim uslovima koncentracije NO fluktuišu u okviru niskih vrednosti. Ovi nivoi su kontrolisani od strane konstitutivnih sintetaza azotnog oksida (NOS): neuronske (nNOS) i endotelijalne (eNOS). Koncentracija NO brzo raste usled hiperaktivnosti nNOS kod ishemije/ reperfuzije (15, 16), kao i kod neurodegenerativnih procesa u CNS-u modulisanih glutamatom (17–20). U patološkim uslovima, kao što je inflamacija, privremeno, ali izuzetno visoki nivoi NO stvaraju se aktivacijom inducibilne NOS (iNOS), te je NO „mač sa dve oštrice“ (21).

Podaci o uključenosti NO u patofiziološke mehanizme kod neurodegenerativnih oboljenja ljudi su sve brojniji. Ova oboljenja nastaju usled multifaktorskih poremećaja, a kasnada interakcija i preklapajućih biohemijskih mehanizama određuje ishod bolesti. Oksidativni stres i NO sistem samo su jedan od tih procesa. Zato je potrebno dodatno lečenje i terapijske strategije koje su usmerene da umanje oksidativni stres i njegove posledice (22). Prema prihvaćenoj hipotezi o ulozi oksidativnog stresa u etiologiji neurodegeneracije, posebno kod PB, reaktivni kiseonički radikali, kao što su superoksidni radikal, NO, peroksinitrit (ONOO-) i hidroksilni radikal (OH), oštećuju osnovne strukture neurona, uključujući mitohondrije, čije prelazne pore otvaraju, aktiviraju kaspaze, cepaju supstrate kaspaza, fragmentišu ćelijske membrane i DNK, dovodeći do poremećaja funkcije i smrti ćelije (23–26).

Mada se koncentracije reaktivnih kiseoničkih radikala ne mogu meriti direktno za života bolesnika, određivanje njihovih produkata reakcije i posledično oštećenje neurona u *post mortem* tkivnim uzorcima služi za indirektno procenjivanje njihovih nivoa (27). Tako su strijati neuroni koji sadrže NOS, dokazani bojenjem sa NADPH-diaforazom (NADPH-d), pošteđeni ne samo u Hantingtonovoj horeji (28, 29) već i u Parkinsonovoj i Alchajmerovoj bolesti (30), delimično i zbog istovremenog povišenja nivoa superoksid dismutaze (SOD). Koncentracije 3-nitrotirozina povišene su u *Lewyevim* telašcima bolesnika sa PB što ukazuje na oštećenja izazvana NO (31). U prilog tome govore i rezultati koji pokazuju da je aktivnost iNOS povišena u *substantia nigra* bolesnika sa PB (32). Ispitivanjem mRNK za NOS nedavno je kod ljudi dokazano da su promene NO sistema u bazalnim ganglijama povezane sa promenama dopaminergičkog sistema (33). Oksidativni stres dovodi do oštećenja bazalnih ganglija (34, 35). Precizniji podaci pokazuju da je povećano stvaranje NO uključeno u patogenezu neurodegenerativnih bolesti kao što su PB (36–41), Hantingtonova horeja (39), Alchajmerova demencija, AIDS demencija kompleks (19, 42) i amiotrofična lateralna skleroza (43, 44).

Uloga NO u oštećenjima mitohondrija objašnjava se činjenicom da NO inhibiše komplekse I, II i IV oksidativnog lanca¹ (18, 45, 46), kod neurodegeneracije (47) dok povećana glutaminiergička aktivnost koja uslovljava povišene koncentracije NO (7) učestvuje u ekscitotoksičnosti (20, 40, 41, 47–49).

Uloga NO u neurodegeneraciji putem disfunkcije mitohondrija pokazana je i u eksperimentalnim modelima korišćenjem mitohondrijskih toksina. Na nivou mitohondrija 1-metil-4-fenilpiridin (MPP⁺), aktivni metabolit neurotoksina 1-metil-4-fenil-1,2,3, 6-tetrahidropiridina (MPTP), deluje inhibišući NADPH-koenzim Q reduktazu (kompleks I) elektronskog transportnog lanca. Neurotoksin MPTP izaziva degeneraciju mezencefaličnih dopaminergičkih neurona kod miševa, primata i ljudi, prouzrokujući mnoge simptome PB (38–42). Kao i mnogo puta u istoriji medicine jedan slučajni događaj bacio je novo svetlo na etiologiju PB. Grupa mladih narkomana iz Kalifornije je 1982. godine razvila tešku formu PB (poznate i kao sindrom „sleđenog zavisnika“) nakon zloupotrebe MPTP supstancije, koju su uzimali kao zamenu za heroin (41). MPTP dovodi do ireverzibilnog oštećenja nigrostrijatih dopaminergičkih neurona kod velikog broja životinjskih vrsta, a kod primata izaziva sindrom sličan parkinsonizmu. MPTP se pretvara u toksični metabolit MPP⁺ dejstvom enzima monoamino oksidaze B (MAO-B). MPP⁺ biva preuzet od strane dopaminergičkog transportnog sistema i selektivno deluje na dopaminergičke neurone inhibišući procese oksidacije u mitohondrijama. Osim toga, MPTP selektivno deluje na nigrostrijatne neurone, ali ne deluje na dopaminergičke neurone u drugim delovima mozga iz, za sada, neobjašnjivih razloga. Selegilin, selektivni MAO-B inhibitor, sprečava MPTP – indukovanu neurotoksičnost zbog blokade stvaranja MPP⁺. Lek se, takođe, koristi u lečenju PB. Pored inhibicije razgradnje dopamina, selegilin sprečava metaboličku aktivaciju potencijalnih endogenih ili egzogenih MPTP – sličnih supstancija, koje mogu izazvati PB.

MPTP je veoma koristan za testiranje novih lekova u eksperimentalnim uslovima. Neki herbicidi, kao što je rotenon, koji selektivno inhibišu funkciju mitohondrija kod životinja, izazivaju sindrom sličan PB.

Azot oksid povećava toksičnost MPTP pa inhibicija aktivnosti kompleksa I u mitohondrijama, izazvana MPP⁺, postaje ireverzibilna.

Slično tome i oštećenje izazvano malonatom, reverzibilnim inhibitorom sukcinat dehidrogenaze (kompleks II), kao i oštećenje izazvano 3-nitro-propionskom kiselinom (3-NP), ireverzibilnim inhibitorom, podseća na histološke, neurohemijske i kliničke karakteristike Hantingtonove horeje

¹ Kompleks I oksidativnog lanca – NADH-koenzim Q oksidoreduktaza ili NADH-kvinon oksidoreduktaza; Kompleks II oksidativnog lanca – sukcinat dehidrogenaza; Kompleks IV oksidativnog lanca – citohrom c oksidaza; NO spada u endogene inhibitore ovih kompleksa respiratornog lanca stvarajući se u mozgu nakon izlaganja primarnom egzogenom toksinu ili sekundarno, nakon infekcije ili inflamacije CNS-a.

код pacova i primata (50–52). Remećenje oksidativne fosforilacije dovodi do smanjenja adenzinotriposfata (ATP), a posledična parcijalna depolarizacija neurona sekundarno aktivira voltažno zavisne N-metil-D-aspartatne (NMDA) receptore, pa dolazi do povišenja intracelularnog kalcijuma, uz aktivaciju NOS i povišenje koncentracija NO.

Nedavna ispitivanja pokazuju da u krvi bolesnika sa PB postoji stalna i blaga redukcija kompleksa I, a ponekad i kompleksa IV respiratornog lanca, povećanim stvaranjem slobodnih kiseoničnih radikala, kao i sistema za njihovo vezivanje (npr. SOD, katalaze). Sve ove abnormalnosti verovatno potiču od DNK mitohondrija kod bolesnika sa PB, ukazujući da su njihove izmenjene mitohondrije izvor oksidativnog stresa. Stoga ovako genetski oštećene mitohondrije bile bi važni terapijski cilj kod PB (20). Smanjena aktivnost kompleksa I može se odrediti i u pojedinim perifernim tkivima (npr. trombociti): mogući biomarkeri za PB (27). Karakteristična topografska distribucija respiratorne disfunkcije u mozgu može biti povezana sa razlikom u regionalnoj ekspresiji izoenzima. Tako tkivno-specifična ekspresija NADH dehidrogenaze i citohrom-c oksidaze (kompleks IV) (46), kao i lokalno povišenje ekspresije posebno citohrom-c oksidaze, korelira sa oštećenjima kod Alchajmerove bolesti (53). DNK mitohondrija je posebno osetljiva na oksidativni stres (54): genetski poremećaj u energetsom metabolizmu ne mora biti značajan sve dok se uticaji ne pojačaju usled poremećaja oksidacije uzrokovane starenjem, što objašnjava kasniju pojavu i progresivnu neurodegenerativnih bolesti. Poremećaji respiratornog lanca u Hantingtonovoj horeji i Fridrajhovoj ataksiji, suprotno tome, smatraju se sekundarnim fenomenom mutacije nuklearnih gena za nerrespiratorne belančevine mitohondrija (55). Uključenost poremećaja funkcije mitohondrija u započinjanje apoptoze (54) ukazuje na njihovu kritičnu ulogu u neurodegeneraciji.

Takođe, dokazano je i da aktivnost glutamatnih NMDA receptora, povećana aktivnost NOS i povećano stvaranje NO imaju značajnu ulogu u ekscitotoksičnosti posredovanoj glutamatom (7, 13, 31, 56–58). NO reaguje sa superoksidnim radikalom, stvarajući peroksinitrin anjon (ONOO⁻), toksički kiseonički radikal (57).

S obzirom na dvostruku ulogu NO, citoprotektivnu ili citotoksičku, Colasanti i Suzuki (12) ukazuju da u ćelijama koje poseduju istovremeno konstitutivnu i inducibilnu NOS (npr. astrociti i endotelijalne ćelije), nNOS i/ili eNOS su u međuzavisnosti sa iNOS, koristeći NO kao modulator. Ukazuje se na obzirivost pri manipulacijama NO sistema s obzirom na to da iNOS aktivatori mogu regulisati intracelularni NO direktnom i brzom modulacijom nNOS i eNOS, dok inhibitori iNOS povećavaju aktivnost konstitutivnih formi NOS. Deksametazon povećava aktivnost nNOS, dok opioidi (morfin) povećavaju aktivnost eNOS (59).

Podaci ukazuju da je glutamat oslobođen u bazalnim ganglijama uključen u ispoljavanje kliničke slike, kako PB, tako i Hantingtonove horeje (48). Pored nNOS dodatni izvor NO u ekscitotoksičnosti je iNOS u aktiviranoj mikrogliji (7, 41, 59, 60). Aktivirane nNOS i iNOS uzrokuju oštećenja

tkiva povećanim stvaranjem NO, sa posledičnim povišenjem koncentracije peroksinitrita, najdestruktivnijeg slobodnog kiseoničkog radikala. Preciznije, MPTP uzrokuje neurotoksičnost posredstvom NO sintetisanog uz pomoć nNOS, oštećujući primarno dopaminergička vlakna u strijatumu, dok NO poreklom od iNOS deluje uglavnom na dopaminergičke neurone u *pars compacta s. nigra*. Lezije stvorene NO iz nNOS su aktivator iNOS i glioze (41).

Povećano stvaranje NO od strane nNOS i iNOS u mozgu povećava lokalni oksidativni stres (45). Kao što je već rečeno, reakcijom NO sa superoksidnim anjonom stvara se jedan od najdestruktivnijih slobodnih kiseoničkih radikala, peroksinitrit, koji se razgrađuje u nitrit (NO²⁻) i hidroksilni jon (OH), snažne inicijatore lipidne peroksidacije. NO₂ može biti stvoren, kako razgradnjom peroksinitrita, tako i oksidacijom NO (60). Rezultati LaVoiea i Hastingsa (61) ukazuju da stvaranje NO, kao i posledični nastanak peroksinitrita i nitrita, ima ulogu u selektivnoj osetljivosti dopaminergičkih neurona zbog oksidacije dopamina i modifikacije proteina. Na taj je način NO uključen u selektivnu neurotoksičnost dopaminergičkih ćelija kod PB. Pored toga, slobodni kiseonički radikali stvaraju se i u uslovima smanjene koncentracije koenzima za NOS, tetrahidrobiopterina, što je pokazano kod PB (62) i kod multisistemske atrofije (63). Ne samo da povišene koncentracije NO direktno inhibišu respiratorni lanac u mitohondrijama (55, 60) već i oslobađaju gvožđe vezano za feritin, potpomažući lipidnu peroksidaciju i oksidativna oštećenja posredstvom Fentonove reakcije (50, 64). Na taj način porast nivoa NO u *substantia nigra* kod bolesnika sa PB (31) može prouzrokovati i povišenje koncentracije gvožđa koje se viđa u ovoj bolesti (40). U poređenju sa drugim ćelijama CNS-a, neuroni su posebno osetljivi na ovakva oštećenja. Zato bi opisano povećano i neadekvatno stvaranje NO imalo važnu ulogu u neurotoksičnosti. Dodatno, se ukazuje da je odnos nNOS i hantingtonina u Hantingtonovoj bolesti analogan odnosu nNOS i distrofina u Dišenovoj mišićnoj distrofiji, u kojoj se abnormalna nNOS u sarkolemi okrivljuje za povećanu toksičnost NO, što uslovljava degeneraciju/nekrozu mišića (64, 65).

Noviji rezultati sa inhibitorima NOS podržavaju prethodne nalaze. Toksičnost izazvana MPTP farmakološki je redukovana inhibitorima NOS. Tako je, 7-nitroindazol (7-NI), selektivni inhibitor nNOS, onemogućio smanjenje dopamina u isečcima strijatuma inkubisanim sa MPP⁺ (28), redukovao lezije kod PB koja je izazvana MPTP, smanjujući akumulaciju MPP⁺ u strijatumu nakon primene MPTP (66–68), sprečio metamfetaminom izazvanu dopaminergičku neurotoksičnost (69, 70) i smanjio oštećenja u Hantingtonovoj horeji izazvanoj malonom i/ili 3-NP (47). Štaviše, kod primata je dokazano neuroprotektivno dejstvo inhibitora nNOS u neurotoksičnosti izazvanoj MPTP (31, 39, 68, 71). Transgeni *knock-out* miševi kojima nedostaje gen za nNOS, pokazali su manje izražena oštećenja kod PB, izazvana ne samo MPTP već i metamfetaminom (39, 71). 7-NI je *in vivo* redukovao sintezu slobodnih kiseoničkih radikala i smanjio stvaranje peroksinitrita (47). Inhibitor iNOS, ami-

nogvanidin, inhibisao je neurotoksičnost izazvanu lipopolisaharidima aktivirane mikroglije (72).

Ukazuje se da bi inhibicija hiperaktivnosti nNOS mogla da zaštiti od gubitka dopamina, posebno u ranim fazama neurotoksičnosti/neurodegeneracije i da bi inhibitori nNOS bili korisni u terapiji neuroloških bolesti u kojima su ekscitotoksični mehanizmi dominantni (38). Podaci da oštećenje mitohondrija posredovano NO učestvuje u neurodegenerativnim bolestima upućuje na moguće raznovrsnije terapijske strategije. Pokazano je da antioksidantne i antiapoptotičke osobine melatonina obuhvataju vezivanje slobodnih radikala, povišenje aktivnosti antioksidantnih enzima (npr. SOD) i inhibiciju NOS (73). Koncentracije endogenog melatonina snižavaju se sa starenjem i razumljivo je da ove promene povećavaju osetljivost nervnih struktura na oksidativna oštećenja.

Zaključak

Brojni rezultati velikih studija pokazuju značajnu ulogu NO u kaskadi događaja koji dovode do smrti dopaminergičkih neurona. Zna se da MPTP uzrokuje neurotoksičnost putem NO sintetisanog pomoću nNOS, oštećujući primarno dopaminergička vlakna i završetke u strijatumu, dok NO stvoren uz pomoć iNOS deluje prvenstveno na tela dopaminergičkih neurona u *pars compacta substantia nigra*. Oštećenje uzrokovano NO iz nNOS može služiti kao katalizator aktivacije iNOS i glioze. Sličan sled događaja može se primeniti na oštećenje dopaminergičkih neurona kod ljudi, bilo usled idiopatske PB ili usled intoksikacije MPTP. Značaj ovih otkrića je ne samo u osvetljavanju činioca koji učestvuju u progresiji neurodegeneracije i PB već i u upućivanju na nove terapijske mogućnosti.

L I T E R A T U R A

1. *Džoljić E*. Nitric oxide and central nervous system [dissertation]. Rotterdam: Erasmus University: 1998.
2. *Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK*. Neurodegenerative disease. In: *Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK*, editors. Pharmacology. 5th ed. London: Churchill Livingstone; 2003. p. 490–501.
3. *Michell AW, Lewis SJ, Foltynie T, Barker RA*. Biomarkers and Parkinson's disease. *Brain* 2004; 127(Pt 8): 1693–705.
4. *Furchgott RF, Zawadzki JV*. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288(5789): 373–6.
5. *Duncan AJ, Heales SJ*. Nitric oxide and neurological disorders. *Mol Aspects Med* 2005; 26(1–2): 67–96.
6. *Prostran MS, Todorović Z, Varagić VM*. Physostigmine and modulators of nitric oxide system on the mean arterial pressure of the spontaneously hypertensive rat. *Gen Pharmacol* 1997; 28(1): 105–12.
7. *Stojanović R, Todorović Z, Nešić Z, Vučković S, Cerovac-Ćosić N, Prostran M*. NG-nitro-L-arginine methyl ester-induced potentiation of the effect of aminophylline on rat diaphragm: the role of extracellular calcium. *J Pharmacol Sci* 2004; 96(4): 493–8.
8. *Stojanović R, Todorović Z, Vučković S, Nešić Z, Prostran M*. NG-nitro-L-arginine methyl ester potentiates the effect of aminophylline on the isolated rat hemidiaphragm. *J Pharmacol Sci* 2003; 92(2): 157–62.
9. *Garthwaite J*. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci* 1991; 14(2): 60–7.
10. *Boje KM*. Nitric oxide neurotoxicity in neurodegenerative diseases. *Front Biosci* 2004; 9: 763–76.
11. *Akyol O, Zoroglu SS, Armutcu F, Sahin S, Gurel A*. Nitric oxide as a physiopathological factor in neuropsychiatric disorders. *In Vivo* 2004; 18(3): 377–90.
12. *Colasanti M, Suzuki H*. The dual personality of NO. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21(7): 249–52.
13. *Koshland DE Jr*. The molecule of the year. *Science* 1992; 258(5090): 1861.
14. *Snyder SH, Bredt DS*. Biological roles of nitric oxide. *Sci Am* 1992; 266(5): 68–71, 74–7.
15. *Kroncke KD, Fehsel K, Kolb-Bachofen V*. Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection—how, why, when, and where? *Nitric Oxide* 1997; 1(2): 107–20.
16. *Iadecola C*. Bright and dark sides of nitric oxide in ischemic brain injury. *Trends Neurosci* 1997; 20(3): 132–9.
17. *Tieu K, Ischiropoulos H, Przedborski S*. Nitric oxide and reactive oxygen species in Parkinson's disease. *IUBMB Life* 2003; 55(6): 329–35.
18. *Hsu M, Srinivas B, Kumar J, Subramanian R, Andersen J*. Glutathione depletion resulting in selective mitochondrial complex I inhibition in dopaminergic cells is via an NO-mediated pathway not involving peroxynitrite: implications for Parkinson's disease. *J Neurochem* 2005; 92(5): 1091–103.
19. *Džoljić E, De Vries R, Džoljić MR*. New and potent inhibitors of nitric oxide synthase reduce motor activity in mice. *Behav Brain Res* 1997; 87(2): 209–12.
20. *Dawson VL, Dawson TM*. Nitric oxide neurotoxicity. *J Chem Neuroanat* 1996; 10(3–4): 179–90.
21. *Snyder SH*. Janus faces of nitric oxide. *Nature* 1993; 364(6438): 577.
22. *Foley P, Riederer P*. Influence of neurotoxins and oxidative stress on the onset and progression of Parkinson's disease. *J Neurol* 2000; 247 Suppl 2: II82–94.
23. *Bennett JP*. Free radicals, oxidative stress and the origin of Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 1999; 170(2): 75–6.
24. *Mazzio EA, Soliman KF*. Glioma cell antioxidant capacity relative to reactive oxygen species produced by dopamine. *J Appl Toxicol* 2004; 24(2): 99–106.

25. *Dehmer T, Heneka MT, Sastre M, Dichgans J, Schulz JB.* Protection by pioglitazone in the MPTP model of Parkinson's disease correlates with I kappa B alpha induction and block of NF kappa B and iNOS activation. *J Neurochem* 2004; 88(2): 494–501.
26. *Wang Y, Chang CF, Morales M, Chiang YH, Harvey BK, Su TP, et al.* Diadenosine tetraphosphate protects against injuries induced by ischemia and 6-hydroxydopamine in rat brain. *J Neurosci* 2003; 23(21): 7958–65.
27. *Halliwell B.* Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 1992; 59(5): 1609–23.
28. *Kowall NW, Ferrante RJ, Beal MF, Richardson EP Jr, Sofroniew MV, Cuello AC, et al.* Neuropeptide Y, somatostatin, and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate diaphorase in the human striatum: a combined immunocytochemical and enzyme histochemical study. *Neuroscience* 1987; 20(3): 817–28.
29. *Morton AJ, Nicholson LF, Faull RL.* Compartmental loss of NADPH diaphorase in the neuropil of the human striatum in Huntington's disease. *Neuroscience* 1993; 53(1): 159–68.
30. *Mufson EJ, Brandabur MM.* Sparing of NADPH-diaphorase striatal neurons in Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Neuroreport* 1994; 5(6): 705–8.
31. *Jenner P, Olanow CW.* Pathological evidence for oxidative stress in Parkinson's disease and related degenerative disorders. In: *Olanow CW, Jenner P, Youdim M*, editors. *Neurodegeneration and neuroprotection in Parkinson's disease*. London: Academic Press; 1996. p. 24–45.
32. *Snyder SH, Bredt DS.* Nitric oxide as a neuronal messenger. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12(4): 125–8.
33. *Eve DJ, Nisbet AP, Kingsbury AE, Hewson EL, Daniel SE, Lees AJ, et al.* Basal ganglia neuronal nitric oxide synthase mRNA expression in Parkinson's disease. *Brain Res Mol Brain Res* 1998; 63(1): 62–71.
34. *Carreras MC, Franco MC, Peralta JG, Poderoso JJ.* Nitric oxide, complex I, and the modulation of mitochondrial reactive species in biology and disease. *Mol Aspects Med* 2004; 25(1–2): 125–39.
35. *Jenner P.* Oxidative mechanisms in nigral cell death in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1998; 13 Suppl 1: : 24–34.
36. *Youdim MB, Lavie L.* Selective MAO-A and B inhibitors, radical scavengers and nitric oxide synthase inhibitors in Parkinson's disease. *Life Sci* 1994; 55(25–26): 2077–82.
37. *Przedborski S, Jackson-Lewis V, Yokoyama R, Shibata T, Dawson VL, Dawson TM.* Role of neuronal nitric oxide in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced dopaminergic neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(10): 4565–71.
38. *Cutillas B, Espejo M, Ambrosio S.* 7-Nitroindazole prevents dopamine depletion caused by low concentrations of MPP+ in rat striatal slices. *Neurochem Int* 1998; 33(1): 35–40.
39. *Perez-Severiano F, Escalante B, Rios C.* Nitric oxide synthase inhibition prevents acute quinolinate-induced striatal neurotoxicity. *Neurochem Res* 1998; 23(10): : 1297–302.
40. *Hirsch EC, Hunot S.* Nitric oxide, glial cells and neuronal degeneration in parkinsonism. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21(5): 163–5.
41. *Przedborski S, Vila M, Jackson-Lewis V V, Dawson TM.* Reply: a new look at the pathogenesis of Parkinson's disease. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21(5): 165.
42. *Džoljić E, van Leeuwen R, de Vries R, Džoljić MR.* Vigilance and EEG power in rats: effects of potent inhibitors of the neuronal nitric oxide synthase. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1997; 356(1): 56–61.
43. *Molina JA, Jimenez-Jimenez FJ, Orti-Pareja M, Navarro JA.* The role of nitric oxide in neurodegeneration. Potential for pharmacological intervention. *Drugs Aging* 1998; 12(4): 251–9.
44. *Heales SJ, Bolanos JP, Stewart VC, Brookes PS, Land JM, Clark JB.* Nitric oxide, mitochondria and neurological disease. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1410(2): : 215–28.
45. *Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH.* A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Ann Neurol* 1992; 32(3): 297–311.
46. *Wallace DC.* Diseases of the mitochondrial DNA. *Annu Rev Biochem* 1992; 61: 1175–212.
47. *Schulz JB, Matthews RT, Klockgether T, Dichgans J, Beal MF.* The role of mitochondrial dysfunction and neuronal nitric oxide in animal models of neurodegenerative diseases. *Mol Cell Biochem* 1997; 174(1–2): : 193–7.
48. *Džoljić E, De Vries R, Džoljić MR.* Anticonvulsant activity of new and potent inhibitors of nitric oxide synthase. *Brain Res Bull* 1997; 43(2): 191–5.
49. *Burns RS, Chiueh CC, Markey SP, Ebert MH, Jacobowitz DM, Kopin IJ.* A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983; 80(14): 4546–50.
50. *Davis GC, Williams AC, Markey SP, Ebert MH, Caine ED, Reichert CM, et al.* Chronic Parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. *Psychiatry Res* 1979; 1(3): 249–54.
51. *Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I.* Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 1983; 219(4587): : 979–80.

52. *Kopin IJ*. Mechanisms of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine induced destruction of dopaminergic neurons. In: *Aktorics K, Herken H, Hucho F*, editors. Selective Neurotoxicity. Berlin: Spinger-Verlag; 1992. p. 333–56.
53. *Chandrasekaran K, Stoll J, Brady DR, Rapoport SI*. Localization of cytochrome oxidase (COX) activity and COX mRNA in the hippocampus and entorhinal cortex of the monkey brain: correlation with specific neuronal pathways. *Brain Res* 1992; 579(2): 333–6.
54. *Ozawa T, Hayakawa M, Katsumata K, Yoneda M, Ikebe S, Mizuno Y*. Fragile mitochondrial DNA: the missing link in the apoptotic neuronal cell death in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 235(1): 158–61.
55. *Schapira AH*. Mitochondrial involvement in Parkinson's disease, Huntington's disease, hereditary spastic paraplegia and Friedreich's ataxia. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1410(2): 159–70.
56. *Moncada S*. The 1991 Ulf von Euler Lecture. The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand* 1992; 145(3): 201–27.
57. *Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, Lei SZ, Chen HS, Sucher NJ*, et al. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature* 1993; 364(6438): 626–32.
58. *Griscavage JM, Fukuto JM, Komori Y, Ignarro LJ*. Nitric oxide inhibits neuronal nitric oxide synthase by interacting with the heme prosthetic group. Role of tetrahydrobiopterin in modulating the inhibitory action of nitric oxide. *J Biol Chem* 1994; 269(34): 21644–9.
59. *Džoljić ED, Kaplan CD, Džoljić MR*. Effect of ibogaine on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in chronic morphine-dependent rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1988; 294: 64–70.
60. *Ignarro LJ, Fukuto JM, Griscavage JM, Rogers NE, Byrns RE*. Oxidation of nitric oxide in aqueous solution to nitrite but not nitrate: comparison with enzymatically formed nitric oxide from L-arginine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90(17): 8103–7.
61. *LaVoie MJ, Hastings TG*. Peroxynitrite- and nitrite-induced oxidation of dopamine: implications for nitric oxide in dopaminergic cell loss. *J Neurochem* 1999; 73(6): 2546–54.
62. *Nagatsu T, Yamaguchi T, Kato T, Sugimoto T, Matsuura S, Akino M*, et al. Biopterin in human brain and urine from controls and parkinsonian patients: application of a new radioimmunoassay. *Clin Chim Acta* 1981; 109(3): 305–11.
63. *Shang T, Kotamraju S, Kalivendi SV, Hillard CJ, Kalyanaraman B*. 1-Methyl-4-phenylpyridinium-induced apoptosis in cerebellar granule neurons is mediated by transferrin receptor iron-dependent depletion of tetrahydrobiopterin and neuronal nitric-oxide synthase-derived superoxide. *J Biol Chem* 2004; 279(18): 19099–112.
64. *Yoshida T, Tanaka M, Sotomatsu A, Hirai S, Okamoto K*. Activated microglia cause iron-dependent lipid peroxidation in the presence of ferritin. *Neuroreport* 1998; 9(9): 1929–33.
65. *Li XJ, Sharp AH, Li SH, Dawson TM, Snyder SH, Ross CA*. Huntingtin-associated protein (HAP1): discrete neuronal localizations in the brain resemble those of neuronal nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(10): 4839–44.
66. *Castagnoli K, Palmer S, Anderson A, Bueters T, Castagnoli N Jr*. The neuronal nitric oxide synthase inhibitor 7-nitroindazole also inhibits the monoamine oxidase-B-catalyzed oxidation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Chem Res Toxicol* 1997; 10(4): 364–8.
67. *Di Monte DA, Royland JE, Anderson A, Castagnoli K, Castagnoli N Jr, Langston JW*. Inhibition of monoamine oxidase contributes to the protective effect of 7-nitroindazole against MPTP neurotoxicity. *J Neurochem* 1997; 69(4): 1771–3.
68. *Boireau A, Dubedat P, Bordier F, Imperato A, Mousaoui S*. The protective effect of riluzole in the MPTP model of Parkinson's disease in mice is not due to a decrease in MPP(+) accumulation. *Neuropharmacology* 2000; 39(6): 1016–20.
69. *Itzhak Y, Ali SF*. The neuronal nitric oxide synthase inhibitor, 7-nitroindazole, protects against methamphetamine-induced neurotoxicity in vivo. *J Neurochem* 1996; 67(4): 1770–3.
70. *Itzhak Y, Gandia C, Huang PL, Ali SF*. Resistance of neuronal nitric oxide synthase-deficient mice to methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 284(3): 1040–7.
71. *Hantraye P, Brouillet E, Ferrante R, Palfi S, Dolan R, Matthews RT*, et al. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase prevents MPTP-induced parkinsonism in baboons. *Nat Med* 1996; 2(9): 1017–21.
72. *McNaught KS, Jenner P*. Altered glial function causes neuronal death and increases neuronal susceptibility to 1-methyl-4-phenylpyridinium- and 6-hydroxydopamine-induced toxicity in astrocytic/ventral mesencephalic co-cultures. *J Neurochem* 1999; 73(6): 2469–76.
73. *Reiter RJ*. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Prog Neurobiol* 1998; 56(3): 359–84.

Rad je primljen 21. II 2005.