

# A nitrogén-monoxid szerepe egyes élettani folyamatok szabályozásában és betegségek patogenezisében

Káposzta Rita

Maródi László

## THE ROLE OF NITROGEN-MONOXIDE IN THE REGULATION OF CERTAIN PHYSIOLOGIC PROCESSES AND IN THE PATHOGENESIS OF DISEASES

In the recent 10 years more and more data have been available concerning to the physiologic and pathophysiologic role of nitrogen-monoxide. In this study on the basis of literature data the effects of nitrogen-monoxide are summarized, especially on immunobiological processes and the pathogenesis of certain diseases.

Correspondence:  
László Maródi, M.D.  
Medical University, Debrecen  
Dept. of Pediatrics  
4021 Debrecen, Pf. 32., Hungary

nitrogen-monoxide, vessel wall tonus, antimicrobial activity, antitumor activity

A nitrogén-monoxid fiziológiai és patofiziológiai jelentőségével kapcsolatban az utóbbi 10 év kutatómunkája eredményeként egyre több adat áll rendelkezésünkre.

Közleményünkben az irodalmi adatok alapján foglaljuk össze a nitrogén-monoxid hatása kapcsán megfigyelteket, különös tekintettel az immunbiológiai hatásra és betegségek patogenezisében játszott szerepére.

Levelezési cím:  
dr. Maródi László  
Debreceni Orvostudományi Egyetem  
Gyermekeklinika  
4021 Debrecen, Pf. 32.

nitrogén-monoxid, értónus, mikroba elleni hatás, tumorellenes hatás

Már a század elején megfigyelték, hogy emlősökben a vizelettel ürített nitrát mennyisége meghaladja a bevitt táplálék nitrogén tartalma alapján kiszámított értéket. E megfigyelésből kiindulva vetették fel, hogy nemcsak a mikroorganizmusok, hanem az emlősök is képesek nitrogén-oxidok termelésére (1). A humán sejtek endogén nitrogén-monoxid (NO) szintézisére vonatkozó bizonyítékokat azonban csak 1981-ben Green és mtsai szolgáltatottak <sup>15</sup>N izotóppal végzett vizsgálataikkal (2). Ezt követően intenzív kutató-

munka kezdődött az endogén nitrogén-oxidok, főként nitrogén-monoxid szintézisének és ezen vegyületek patofiziológiai jelentőségének felderítésére. Ma már általánosan elfogadott, hogy a nitrogén-monoxid az L-arginin deiminációja révén, annak guanidino-nitrogénjéből keletkezik, ekvivalens mennyiségű L-citrullin képződése mellett. A reakciót a nitrogén-oxid szintetáz katalizálja. A felszabaduló nitrogén-monoxid élettartama igen rövid, és képződése után *in vitro* 5–50 s múlva alakul át stabil nitríté és nitráttá (3–7) (1. ábra).

## A nitrogén-oxid-szintetáz típusai és szabályozása

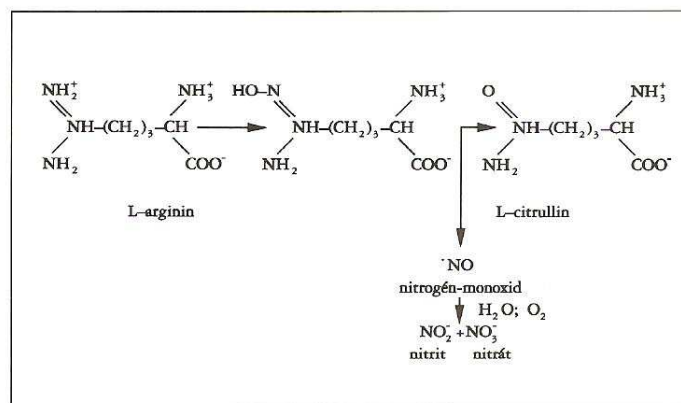
Az L-arginin deiminációját katalizáló nitrogén-oxid-szintetáz szubsztrát- és inhibitor specificitás, továbbá antigenitás alapján két típusra osztható: konstitutív és indukálható izoenzimekre (8). Mindkét izoenzim kofaktorai a FAD (flavin-adenin-dinucleotid), a NADPH, és a  $BH_4$  (tetrahydrobiopterin). Ezzel magyarázható, hogy aktivitásuk N-szubsztituált arginineken kívül (például N-nitro-L-arginin) flavoprotein inhibitorokkal (például difenileniodoniummal) is gátolható (9-11).

Az indukálható izoenzim elsősorban makrofágokban mutatható ki, kalciumtól független, EGTA-val [etilén-glikol-bisz-tetraacetát] csak részlegesen, trifluoperazinnal pedig egyáltalán nem gátolható (12). Ezzel szemben a kalcium-függő konstitutív izoenzim a fenti szerekekkel gátolható (13). Az indukálható izoenzim aktivitását fokozzák a különböző citokinek (például TNF- $\alpha$  [tumor necrosis factor- $\alpha$ ], INF- $\gamma$  [interferon- $\gamma$ ], bakteriális termékek (például lipopoliszacharid, endothelsejtek esetében pedig biogén aminok is (hisztamin, dopamin) (14-16). A nitrogén-monoxid-szintetáz aktivitása az indukciót követő 4-12 óra elteltével kezd emelkedni, és 24-48 óráig stabil marad. Az indukció gátolható szteroidokkal, fehérjeszintézis gátlókkal (cikloheximid), szerin-proteáz inhibitorokkal, és különböző citokinekkal (17-19).

Immunhisztokémiai vizsgálatokkal több szövet- és sejtféleségből mutatták ki a nitrogén-monoxid-szintetáz valamelyik vagy mindkét típusát. Konstitutív enzimaktivitás van jelen a szívizomban, az agyban, a mellékvesében, a neutrofil granulocytákban, a thrombocytákban, a hízósejtekben, és az epithelsejtekben. Indukálható nitrogén-oxid-szintetáz mutatható ki a tüdőben, a lépben, a májban, a macrophagokban, a hepatocytákban, a mesangialis sejtekben és a fibroblastokban. Az endothelsejtek mindkét típusú izoenzimot tartalmazzák. Tumorsejtek közül a konstitutív enzimet neuroblastomában, az indukálhatót pedig adenocarcinomában mutatták ki (20-23).

## A nitrogén-monoxid élettani hatásai

A nitrogén-monoxid leginkább ismert és tanulmányozott élettani hatása az érrendszer tónusának szabályozása. Ma már általánosan elfogadott, hogy



1. ábra  
A nitrogén-monoxid bioszintézise

a korábban EDRF-nek (endothelium-derived relaxing factor) nevezett, az endothelsejtekből különböző vasodilatatorok hatására felszabaduló, a simaizomsejteket relaxáló rövid féléletű humorális anyag kémiai azonos a nitrogén-monoxid (24). Az endothelsejtek az L-arginin metabolizmusa folyamán nitrogén-monoxidot szintetizálnak, amely az érfa simaizomsejtek szolubilis guanilat-ciklázának aktiválása révén azok relaxációját képes előidézni. A képződött nitrogén-monoxid állandó, nyugalmi vasodilatator hatást biztosít. Képződése az aktuális vérátáramlástól és az érfa ható mechanikai erőktől függ és sokkal kifejezettebb az arteriákban, mint a vénákban. A nitrogén-monoxidra, a nitrozaminokra és a nitrátvegyületekre azonban a vénák simaizomsejtjei jóval érzékenyebben reagálnak. Ezen megfigyelések alapján a nitrovasodilatator terápia során fellépő nitrátrezisztenciát az is magyarázhatja, hogy a tartósan emelkedett nitrát és nitrogén-monoxid szint csökkenti a guanilat-cikláz és a nitrogén-monoxid-szintetáz aktivitását is, amelynek következtében a simaizomsejtek nitrogén-monoxid iránti érzékenysége, és az endogén nitrogén-monoxid-képződés is csökken.

A nitrogén-monoxid gátolja a *thrombocyták* aggregációját és adhézióját, szabályozza a *hízósejtek* hisztamin szekrécióját is. Ezen hatásokat a nitrogén-monoxid szintén a szolubilis guanilat-cikláz aktiválásával fejt ki.

A nitrogén-monoxidnak fontos szerepe van a központi és a perifériás idegrendszer működésében egyaránt. Állatkísérletes vizsgálatok eredményei alapján a

dr. Káposzta Rita  
dr. Maródi László  
Debreceni Orvostudományi  
Egyetem  
Gyermecklinika  
Debrecen  
Érkezett: 1992. november 18.  
Elfogadva: 1992. december 16.

kisagyi sejtek N-metil-D-aszpartáttal történő stimulálásakor azokból az L-arginin metabolizmusa révén nitrogén-monoxid szabadul fel, amely az effektor sejtekben aktiválja a szolubilis guanilát-ciklázst. Bár a nitrogén-monoxidnak az agy működésében betöltött biológiai szerepére vonatkozóan csak szórványos ismeretekkel rendelkezünk, feltételezhető, hogy a nitrogén-monoxid a rövid izgalmi ingerületek kialakulásában és a hosszú agyi funkciókban (tanulás, memória) is szerepet kap. Neurotranszmitterként, neuromodulátorként és egyéb transzmitterek hatásának közvetítőjeként szerepe lehet a perifériás és a központi idegrendszer működésében egyaránt.

Számos kísérleti adat bizonyítja, hogy a nitrogén-monoxidnak szerepe van az immunrendszer effektor működésében. Ezek közül is kiemelt figyelmet érdemel az antimikrobiális és a tumorsejtek elleni immunfunkciókra, valamint az immunmodulációra kifejtett hatás. Ismeretes, hogy a macrophagok citokinek és/vagy különböző mikrobiális termékek hatására aktiválódnak, amelynek során jelentős mértékben fokozódik antimikrobiális funkciójuk. Az aktivált macrophagokban fokozott mértékű nitrogén-monoxid-termelés mutatható ki, amelynek szerepe lehet a mikrobicid vagy sztatikus hatásban. Ezt bizonyítja, hogy a mikrobicid hatás kivédhető a nitrogén-monoxid termelésének és indukciójának gátlásával, továbbá a felszabaduló gyök vastartalmú vegyületekkel való megkötésével. A nitrogén-monoxid antimikrobiális hatása összefügghet a célsejtekben bekövetkező anyagsere-változásokkal, illetve a macrophag aktivációjakor a „respiratory burst” (oxidatív fellobbanás) alkalmával képződő szuperoxid anionnal ( $O_2^-$ ) való kölcsönhatással. Megfigyelték ugyanis, hogy a két reaktív gyökből ( $NO$  és  $O_2^-$ ) keletkező peroxinitrit anion ( $NO_3^-$ ) a savi pH-jú phagolysosomákban a nitrogén-monoxidnál erősebb nitroziláló vegyületre, nitrogéndioxidra, illetve hidroxilgyökre bomlik, amely a továbbiakban lipidperoxidációt, a purin- és a pirimidinbázisok oxidációját indítja el, tovább károsítva a targetsejtet. A mikroorganizmusok nitrogén-monoxid iránti érzékenysége aktuális szaporodási fázisukkal és anyagszerükkel egyaránt összefügghet. A mikrobicid hatás kivédésében szerepe lehet az egyes mikroorganizmusokban szelektíven jelenlévő vas-függő szuperoxid dízmutáz enzimnek is. Ez az enzim közömbösíti a reaktív nitrogén-monoxid-gyök hatását (25–29).

A reaktív nitrogén közti termékek tumorsejtek elleni immunvédekezésben betöltött szerepét főként *in vitro* vizsgálatok igazolják. E vizsgálatok szerint a citokinekkel és bakteriális termékekkel aktivált macrophagok fokozott  $NO$ -termelés mel-

lett gátolták bizonyos tumorok növekedését, illetve sejtízist okoztak. Az aktivált macrophagok tumorelles hatását az L-arginin szerkezeti analógjai nagymértékben csökkentik (3, 5, 30).

A  $NO$  immunmodulációs hatását – az eddigi megfigyelések alapján – a T-lymphocyták proliferációjának és aktiválódásának gátlásaival fejti ki. A hatásmechanizmus azonban még további tisztázásra vár. Nem eldöntött az sem, hogy a lymphocytákban és más sejtekben a nitrogén-monoxid által előidézett anyagsere-változásokért a rövid féleletidejű gyök önmagában felelős, vagy szerepet kapnak a nitrogén-monoxidból képződő, viszonylag stabil vas-nitrozo-tiol komplexek is (31).

## A nitrogén-monoxid szerepe betegségek patogenezisében

A nitrogén-monoxidnak az értónus szabályozásában játszott szerepe alapján könnyen belátható, hogy annak kóros mértékű szintézise, valamint a célsejtekben zajló szignáltranszdukció zavara kapcsolatba hozható az érrendszert is érintő néhány megbetegedéssel. *Essentialis hypertoniában* szenvedő betegekben a nitrogén-monoxid vasodilatator hatása csökkent, és az acetilkolin által létrehozott értágulat kisebb mértékű, mint egészségesekben. Ezzel kapcsolatos az a megfigyelés is, hogy a kísérletesen előidézett magas vérnyomás esetén csökken az érfali simaizomsejtek nitrogén-monoxiddal szembeni érzékenysége. A *diabetes mellitushoz* társuló érbetegségek patomechanizmusában is szerepet kap a nitrogén-monoxid. A lipidek és a fehérjék kóros glikozilációja, valamint a károsodott bazálmembrán az endothelsejtek károsodását okozza, ezáltal csökken a nitrogén-monoxid-szintézis, és a képződött nitrogén-monoxid is jelentős mértékben inaktíválódik. *Atherosclerosisban* a plakkokban lerakódott oxidált-LDL és a monocytákból felszabaduló szuperoxid anion, továbbá az endothelsejtek károsodása miatt csökkent mértékű nitrogén-monoxid-szintézis és a képződött nitrogén-monoxid inaktíválása egyaránt felelős az értónus fokozódásáért. *Cysticus fibrosisban* és *Eisenmenger-szindrómában* a tüdőartériákban mutattak ki csökkent mértékű nitrát-dependens vasodilatatiót.

Feltételezhető, hogy a *subarachnoidealis vérzést követő vasospasmus* kialakulásáért, legalább részben a nitrogén-monoxid hiánya a felelős, amelyet a nitrogén-monoxidnak a vörösvértestekből felszabaduló hemoglobinhoz való kötődése idéz elő. *In vitro* kísérletek bizonyítják, hogy a basilaris arté-

riák endothel-dependens relaxációja hemoglobinnal, illetve véres liquorral gátolható.

A nitrogén-monoxid szintézisének szerepe lehet az *epilepsziás roham* kialakulásában is. Epilepsziás rohamot okozhat az egyes agyterületeken lokálisan észlelhető cGMP-(ciklikus guanozin-monofoszfát)szint növekedés. Ismert továbbá, hogy a glutamát szekrécióját gátló vegyületek nemcsak az ischaemiás károsodás ellen védik az agyszövetet, hanem antiepileptikus hatást is kifejtenek.

A nitrogén-monoxid neurotoxikus hatása csak részben magyarázható a kórosan megemelkedett cGMP-szinttel, hiszen a gyök excesszív mennyiségben gátolja a celluláris DNS-szintézist, a ribonukleotid-reduktáz enzimet, csökkenti a fehérjeszintézist, és gátolja az oxidatív foszforilációt az akonitáz enzim és a mitochondrialis elektrontranszport-lánc működésének bénításával (32, 33). A nagy mennyiségű nitrogén-monoxidnak ezért citosztatikussá, és potenciálisan citotoxikus hatása van.

A nitrogén-monoxid hatása az emésztőrendszer simaizomszövetjének relaxációjában is megnyilvánul. Immunhisztokémiai vizsgálatokkal a közelmúltban igazolták, hogy a *csecsemőkori hypertoniás pylorusstenosis* esetén a pylorus megvastagodott körkörös izomrétegében található dilatált, tekervényes idegrostokból a nitrogén-monoxid-szintetáz szelektíven hiányzik. Ezzel szemben a hosszanti izomréteg és a myentericus plexus idegvégződéseiben aktiválása megtartott (20–22, 34, 35).

Többen felvetették azt is, hogy a nitrogén-monoxid a *karcinogenezis* folyamatában is szerepet játszhat. A gyulladás folyamán a macrophagokból felszabaduló reaktív nitrogén-gyök az alacsony pH-jú mikrokörnyezetben a bakteriális aminosavakkal könnyen képez karcinogén hatású n-nitroso vegyületeket (36).

Az aktivált macrophagok által termelt reaktív nitrogén intermedierek állatkísérletek szerint szerepet játszanak *gyulladásos betegségek* patogenezisében is. *In vivo* modell-kísérletek igazolják, hogy a klinikumban citosztatikumként alkalmazott bleomycin – amely súlyos mellékhatásként diffúz tüdőgyulladást és -fibrosist okozhat –, a macrophagokat aktiválja, és azokat fokozott nitrogén-monoxid-termelésre készíti. A felszabaduló nitrogén-gyök toxikus ágensként és/vagy messenger molekulaként szerepelhet a gyulladás kialakulásában. Ehhez hasonlóan a hasnyálmirigy gyulladásos szigetsejtjeit érintő elváltozásokban is igazolták a nitrogén-monoxid jelentőségét; kísérleti állatokban a streptozotocinnal kiváltott diabetes mellitust a nitrogén-monoxid-szintetáz gátlásával részlegesen ki lehetett védeni. Glomerulonephritisben a veséket infiltráló macrophagokban is fokozott nitrogén-monoxid-termelés mutatható ki, amely patogenetikai faktorként szerepelhet a glomerulusok károsodásában és a létrejövő hemodinamikai változásokban. A glükokortikoidok intracelluláris receptorhoz kötődve specifikusan gátolják a nitrogén-monoxid-szintetáz indukcióját, amelynek szerepe lehet a különböző gyulladásos és allergiás betegségekben kifejtett hatásában (31, 25, 26).

Az eddigi irodalmi adatok alapján megállapítható, hogy a nitrogén-monoxid biológiai hatása sokkal szélesebb, mint azt korábban vélték, és magában foglalja a sejtszabályozási mechanizmusok és effektor sejtfunkciók számos területét. Élettani és kórélettani szerepével kapcsolatos kutatások rendkívül sokoldalúak. A jövőben várhatóan tovább tisztázódik a nitrogén-monoxidnak és más nitrátvegyületeknek az életfolyamatok szabályozásában és a betegségek patogenezisében betöltött szerepe.

## IRODALOM

- Mitchell HH, Schonle HA, Grindly HS. The origin of the nitrates in the urine. *J Biol Chem.* 1916; 24:469–490.
- Green LC, De Luzuriaga KR, Wagner DA et al. Nitrate biosynthesis in man. *Proc Natl Acad Sci, USA.* 1981; 78:7764–7768.
- Hibbs JB Jr, Vavrin Z, Taintor RR. L-arginine is required for expression of the activated macrophage effector mechanism causing selective metabolic inhibition in target cells. *J Immunol* 1987; 138:550–565.
- Iyengar R, Stuehr DJ, Marletta MA. Macrophage synthesis of nitrite, nitrate, and N-nitrosamines: precursors and role of the respiratory burst. *Biochemistry.* 1987; 6369–6373.
- Hibbs JN Jr, Taintor RR, Vavrin Z. Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science.* 1987; 235:473–476.
- Kelm M, Schrader J. Control of coronary vascular tone by nitric oxide. *Circ Res* 1990; 66:1561–1575.
- Hibbs JB Jr. Synthesis of nitric oxide from L-arginine: a recently discovered pathway induced by cytokines with antitumour and antimicrobial activity. *Res Immunol.* 1991; 142:565–569.
- Nathan CF, Stuehr DJ. Does endothelium-derived nitric oxide have a role in cytokine-induced hypotension? *J Nat Cancer Inst* 1990; 82:726–728.

9. Mayer B, John M, Heinzel B et al. Brain nitric oxide synthase is a biopterin- and flavin-containing multifunctional oxidoreductase. *FEBS Lett.* 1991; 288:187-191.
10. Stuehr D J, Fasehun O A, Kwon S N et al. Inhibition of macrophage and endothelial cell nitric oxide synthase dihenyleneiodonium and its analogs. *FASEB J.* 1991; 5:98-103.
11. Gross S S, Stuehr D J, Aisaka K, Jaffe E A, Levi R, Griffith O W. Macrophage and endothelial cell nitric oxide synthesis: cell-type selective inhibition by N<sup>G</sup>-aminoarginine, N<sup>G</sup>-nitroarginine and N<sup>G</sup>-methylarginine. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990; 170:96-103.
12. Hauschildt S, Luckhoff A, Mulsch A, Kohler J, Bessler W, Busse R. Induction and activity of NO synthase in bone-marrow-derived macrophages are independent of Ca<sup>2+</sup>. *Biochem J* 1990; 270:351-356.
13. Bredt D S, Snyder S H. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990; 87:682-685.
14. Hauschildt S, Bassenge E, Bessler W, Busse R, Mulsch A. L-arginine-dependent nitric oxide formation and nitrite release in bone marrow-derived macrophages stimulated with bacterial lipopeptide and lipopolysaccharide. *Immunol.* 1990; 70:332-337.
15. Furchgott R F. Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res.* 1983; 53:557-573.
16. Kilbourn R G, Belloni P. Endothelial cell production of nitrogen oxides in response to interferon in combination with tumor necrosis factor, interleukin-1, or endotoxin. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82:772-776.
17. Kilbourn R, Lopez-Berestein G. Protease inhibitors block the macrophage-mediated inhibition of tumor cell mitochondrial respiration. *J Immunol.* 1990; 144:1042-1045.
18. Di Rosa M, Radomski M, Carnuccio R, Moncada S. Glucocorticoids inhibit the induction of nitric oxide synthase in macrophage. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990; 172:1246-1252.
19. Gazzinelli R T, Oswald I P, James S L, Sher A. IL-10 inhibits parasite killing and nitrogen oxide production by IFN-gamma-activated macrophages. *J Immunol.* 1992 148:1792-1796.
20. Palacios M, Knowles R G, Palmer R J M, Moncada S. Nitric oxide from L-arginine stimulates the soluble guanylate cyclase in adrenal glands. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989; 155:317-321.
21. Schmidt H H H W, Seifert R, Bohme E. Formation and release of nitric oxide from human neutrophils and HL-60 cells induced by a chemotactic peptide, platelet activating factor and leukotriene B<sub>4</sub>. *FEBS Lett* 1989; 244:357-360.
22. Radomski M W, Palmer R M J, Moncada S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990; 87:5193-5197.
23. Amber I J, Hibbs J B Jr, Taintor R R, Vavrin Z. Cytokines induce an L-arginine-dependent effector system in non-macrophage cells. *J Leukoc Biol.* 1988; 44:58-65.
24. Ignarro L I, Buga G M, Wood K S, Byrns R E, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and veins is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84:9265-9269.
25. Langermans J A, Van der Hulst M E, Nibbering P H, Hiemstra P S, Franssen L, Van Furth R. IFN-gamma-induced L-arginine-dependent toxoplasmatic activity in murine peritoneal macrophages is mediated by endogenous tumor necrosis factor-alpha. *J Immunol.* 1992; 148:568-574.
26. Liew F Y, Moss D, Parkinson C, Rogers M V, Moncada S. Resistance to Leishmania major infection correlates with the induction of nitric oxide synthase in murine macrophages. *Eur J Immunol.* 1991; 21:3009-3014.
27. Chang J, Xing Y, Magliozzo R S, Bloom B R. Killing of virulent mycobacterium tuberculosis by reactive nitrogen intermediates produced by activated murine macrophages. *J Exp Med.* 1992; 175:1111-1122.
28. Alspaugh J A, Granger D L. Inhibition of cryptococcus neoformans replication by nitrogen oxides supports the role of these molecules as effectors of macrophage-mediated cytostasis. *Infect Immun.* 1991; 59:2291-2296.
29. Beckman J S, Beckman T W, Chen J, Marshall P A, Freeman B D. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990; 87:1620-1642.
30. Stuehr D J, Nathan C F. Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. *J Exp Med.* 1989; 169:1543-5532.
31. Drapier J C, Pellat C, Henry Y. Generation of EPR-detectable nitrosyl-iron complexes in tumor target cells cocultured with activated macrophages. *J Biol Chem.* 1991; 266:1016-1066.
32. Tomioka H, Saito H. Characterization of immunosuppressive function of murine peritoneal macrophages induced with various agents. *J Leukoc Biol.* 1992; 51:24-31.
33. Hoffman R A, Langrehr J M, Blliar T R, Curran R D, Simmons R L. Alloantigen-induced activation of rat splenocytes is regulated by the oxidative metabolism of L-arginine. *J Immunol.* 1990; 145:2220-2226.
34. Moncada S, Higgs E A. Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest.* 1991; 21:361-374.
35. Vanderwinden J M, Mailleux P, Schifflmann S N, Vanderhaeghen J J, De Laet M H. Nitric oxide synthetase activity in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *N Eng J Med.* 1992; 327:511-515.
36. Roediger W E, Lawson M J, Radcliffe B C. Nitrite from inflammatory cells - a cancer risk factor in ulcerative colitis? *Dis Colon Rectum.* 1990; 33:1034-1036.
37. Huot A E, Hacker M P. Role of reactive intermediate production in alveolar macrophage-mediated cytostatic activity induced by bleomycin lung damage in rats. *Cancer Res.* 1990; 50:7863-7866.
38. Kolb H, Kiesel U, Kroncke K D, Kolb-Bachofen V. Suppression of low dose streptozotocin induced diabetes in mice by administration of a nitric oxide synthase inhibitor. *Life Sci.* 1991; 49:PL213-217.
39. Cook H T, Sullivan R. Glomerular nitrite synthesis in in situ immune complex glomerulonephritis in the rat. *Am J Pathol.* 1991; 139:1047-1052.