

Maciej Krzyżanowski, Tomasz Gos, Roman Hauser

Znaczenie tlenu azotu dla medycyny nie tylko sądowej

The meaning of nitric oxide, not only in forensic medicine

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Gdańsku
Kierownik: dr hab. R. Hauser – profesor

Praca przedstawia „karierę”, jaką tlenek azotu zrobił w naukach biologicznych oraz jego uniwersalny charakter i wszechobecność w ustroju. Rodnik ten zaangażowany jest w regulację na poziomie komórkowym wielu ważnych dla życia procesów i funkcji szeregu układów (nerwowego, sercowo-naczyniowego, odpowiedzi immunologicznej, rozrodczego i in.) Niezmiernie ważne jest jego znaczenie w patomechanizmach pewnych schorzeń a także jego rola w powstawaniu odpowiedzi emocjonalnej w centralnym układzie nerwowym.

Nitric oxide plays a great role in biological sciences, it is ubiquitous and involved in many of cellular mechanisms. This radicle regulates of life–important functions and processes (in nervous, cardiovascular, reproductive system and immune reactions). Of great importance is the meaning of nitric oxide in the pathology of various disorders. The role of nitric oxide in emotional response of the brain is underlined.

Słowa kluczowe: tlenek azotu, syntaza tlenu azotu, odpowiedź emocjonalna

Key words: nitric oxide, nitric oxide synthase, emotional response

W 1977 roku Murad badając mechanizm działania wazodylatacyjnego nitrogliceryny odkrył, że powoduje ona uwalnianie się tlenu azotu, rozkurczającego mięśniówkę gładką naczyń. Zaintrygowany faktem, że substancja gazowa może regulować ważne funkcje komórkowe, postulował, że inne czynniki jak np. hormony mogą również działać poprzez uwalnianie NO.

Historia tlenu azotu jako przekaźnika międzykomórkowego datuje się natomiast od 1980 r. Furchgott jako pierwszy stwierdził, że acetylocholina działając na komórki śródbłonna naczyniowego wywiera swoje działanie rozkurczowe na mięśniówkę gładką naczyń za pomocą bliżej nieokreślonej

cząsteczki o charakterze przekaźnika komórkowego. Nazwał ją czynnikiem EDRF (endothelial derived relaxing factor). W 1987 r. Ignarro prowadząc badania niezależnie i wspólnie z Furchgottem doszedł do wniosku, że EDRF jest tożsamy z tlenkiem azotu (11). Od tego czasu pojawiło się wiele opracowań dotyczących jego znaczenia dla fizjologii komórek zwierzęcych, jak również roślinnych. W 1992 r. w USA cząsteczka NO uznana została molekułą roku (5). 19 października 1998 roku dociekliwość trójki wspomnianych badaczy została uhonorowana przyznaniem im Nagrody Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii.

Tlenek azotu produkowany jest przez komórkę w trzech postaciach:

- 1) jako wolny rodnik NO^{\bullet} – aktywując cykliczny GMP (cGMP) odpowiedzialny jest za rozkurczanie naczyń, działanie antyagregacyjne na płytki krwi, neurotransmisję bodźców, zjawisko erekcji;
- 2) jako komponenta S-nitrosylowej struktury RSNO stanowiącej formę transportu i przechowania NO^{\bullet} przez hemoglobinę, który po uwolnieniu z RSNO aktywuje cGMP;
- 3) jako tlenek azotu połączony z jonami metali, po odłączeniu od których także aktywuje cGMP biorąc udział w procesach regulacji reakcji enzymatycznych i regulacji immunologicznej cytotoxycności (27).

Jak widać z powyższych przykładów niezależnie od formy istnienia tlenku azotu, jego działanie na poziomie komórki związane jest najczęściej z uaktywnieniem cyklicznego GMP, który uważa się za wtórny przekaźnik NO. NO ponadto jako wolny rodnik indukuje ekspresję genów (np. białek biorących udział w apoptozie, genu VEGF, fosfatazy MAP-kinazy), jako generator jonów hydroksylowych (przez OONO H) działa destrukcyjnie na DNA (ADP rybozylacja), blokuje grupy $-\text{SH}$ zaburzając łańcuch oddechowy, wywołuje nitrozylację białek.

Tlenek azotu jest syntetyzowany przy udziale enzymów – syntaz NO (NOS). Należą do nich: syntaza konstytutywna występująca jako: endotelialna (eNOS) i neuronalna (nNOS) oraz druga jej izoforma – syntaza indukowalna (iNOS) (7). Aktywność syntaz konstytutywnych zależna jest od kompleksów kalmodulina- Ca^{2+} oraz od substancji podnoszących stężenie Ca^{2+} w reagujących komórkach (bradykinina, substancja P, endoteliny 1 i 3, trombina, serotonina, acetylocholina, ADP i in.) (7). Natomiast syntaza indukowalna uczynniana jest po stymulacji komórek cytokinami, takimi jak: interferony α , β , γ , interleukina 1, $\text{TNF}\alpha$ oraz przez liposacharydy bakterii i niektórych pierwotniaków. Obecność iNOS wykazano w aktywowanych komórkach żernych: makrofagach, neutrofilach, komórkach Kupfera, a ponadto w hepatocytach, chondrocytach, komórkach śródbłonna naczyniowego, w komórkach mięśniówki gładkiej naczyń (7).

Obecnie wiadomo, że znaczenie tlenku azotu dla organizmu jest wielorakie. Pełni on rolę m.in. w funkcjonowaniu układu odpowiedzi immunologicznej, układu krążenia, centralnego i obwodowego układu nerwowego, regulacji funkcji układu rozrodczego (5, 7, 27, 29).

Produkowany przez komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego bierze udział w procesach niszczenia patogenów; wytwarzany w limfocytach działa cytotoxycznie na komórki nowotworowe; poprzez udział w aktywacji receptora CD23 monocytów wpływa na produkcję $\text{TNF}\alpha$, który współdziałając z innymi substancjami np. liposacharydami aktywuje indukcję genów odpowiedzi immuno-

logicznej i zapalnej w monocytach. We wstrząsie septycznym tlenek azotu wytwarzany przy udziale iNOS może implikować pogłębianie się parametrów wstrząsu i prowadzić do wielonarządowych zaburzeń hemodynamicznych jak i do zaburzeń oddechowych (20,24,25). Rixen ze współpracownikami badał wartość prognostyczną stężeń NO w surowicy u pacjentów z pourazową bakteryjną posocznicą (BAC), pourazowym zespołem septycznym (SS) i pourazową systemową odpowiedzią zapalną (SIRS). Udowodnił, że w przypadku progresywnego wzrostu stężeń NO dochodziło do pogorszenia się stanu chorych z sepsą i zwiększenia ryzyka ich śmiertelności (28).

W wielu doświadczeniach wykazano, że w zmienionych miażdżycowo tętnicach ekspresja eNOS jest wyraźnie zmniejszona a nawet równa zero. Pozwoliło to wywnioskować, że tlenek azotu działa hamująco na proces miażdżycowy m. in. przez blokowanie działania LDL oraz hamowanie aktywacji płytek krwi (30, 32). Tlenek azotu wraz z angiotensyną II, bradykininą, endotelinami i prostacykliną zaangażowany jest w regulację ciśnienia krwi (12). Mimo powszechnie znanej jego roli w rozszerzaniu naczyń krwionośnych, w modelu doświadczalnym wstrząsu krwotocznego wykazano, że zablokowanie aktywności NOS prowadzi do gwałtownego rozwoju niedociśnienia tętniczego, poza tym do zwiększenia aktywności metabolizmu beztlenowego, kwasicy mleczanowej, hiperkalemii oraz morfologicznego uszkodzenia tkanek zwłaszcza serca i wątroby pomimo utrzymującej się prawidłowej prężności tlenu we krwi tętniczej (23).

Aktywność iNOS stwierdzono w kardiomiocytach u osób z niewydolnością krążenia różnego pochodzenia, w regionach zarówno objętych zawałem serca jak i poza nimi. Aktywność tę stwierdzono również w makrofagach naciekających zmieniony zawałowo mięsień serca, w zapaleniu mięśnia sercowego jak i w sercu chorych z posocznicą (10).

Znamienną rolę tlenek azotu pełni również w czynności nerek. Powstając w macula densa aparatu przykłębkowego odgrywa funkcję w retrokontroli cewko-kłębkowej determinując prawidłowość hemodynamiki kłębka nerkowego i produkcję reniny. Ponadto przeciwdziała zakrzepicy kłębków nerkowych w przebiegu wstrząsu septycznego (3,8).

Wewnątrzkomórkowa produkcja NO pośredniczy w cytotoksycznym działaniu cytokin, skierowanym przeciwko komórkom β trzustki w cukrzycy insulinozależnej powodując ich apoptozę (17).

Na uwagę zasługuje fakt udziału NO w regulacji pracy układu rozrodczego. Jablonka-Schariff ze współpracownikami udowodniła na modelu zwierzęcym rolę eNOS i iNOS w procesach steroidogenezy, w rozwoju oocytów oraz owulacji i ciała żółtego (18).

Wydarzeniem zabarwionym pewną dozą sensacji było wprowadzenie do leczenia w 1998 roku leku wynalezioneego w laboratorium firmy Pfizer, który leczy męską impotencję. W mechanizmie erekcji pośrednictwo NO uwalnianego z zakończeń nerwów i endotelium polega na aktywowaniu rozpuszczalnej (cytosolowej) cyklazy guanylanowej co powoduje wzrost stężenia wtórnego przekaźnika – cGMP. cGMP rozkładany jest przez enzym fosfodiesterazę cyklicznego 3', 5' GMP (phosphodiesterase type 5). Wprowadzona do leczenia VIAGRA (Sildenafil) jest szczególnie wybiórczym, specyficznym inhibitorem tego

enzymu. Działanie VIAGRY polega na wzmożeniu akumulacji cGMP w ciałach jamistych prącia i przedłużeniu wzwodu. W dawkach terapeutycznych VIAGRA nie powinna działać ogólnie naczyniowo, w przeciwieństwie do pożądanego działania miejscowego (4).

Znaczenie NO ujawnia się również w autoimmunologicznych miopatiach: stwierdzono zwiększoną ekspresję iNOS i nNOS w sarkolemie zarówno uszkodzonych, jak i zanikowych miocytów z następującą martwicą tych komórek (31).

Kolejną rolą NO w patologii komórkowej jest jego udział w powstawaniu zmartwiającego zapalenia błony śluzowej jelita cienkiego (necrotizing enterocolitis) u noworodków. Wykazano, że zwiększenie biosyntezy NO w ścianie jelita prowadzi do śmierci szczytowych komórek kosmków w mechanizmie apoptozy (9).

Tlenek azotu zaangażowany jest również w regulację procesów zachodzących w siatkówce oka, zarówno dotyczących widzenia, jak i przepływu naczyniowego (13).

W chwili obecnej prowadzi się liczne próby z zastosowaniem terapeutycznym tlenu azotu. W postaci gazowej podaje się go w inhalacjach noworodkom z ciężkim przetrwałym nadciśnieniem płucnym. Poddawane są również ocenie klinicznej inhibitory syntaz tlenu azotu w leczeniu wstrząsu endotoksycznego, w chorobach neurodegeneracyjnych, w przypadku niedokrwienia mózgu: pochodzenia naczyniowego, pourazowego, spowodowanego udarem cieplnym czy związanego z przewlekłym nadużywaniem alkoholu etylowego (1, 6). Efekty tych prób są więcej niż obiecujące. W przypadkach zatrucia amoniakiem udowodniono, że leczenie inhibitorami syntaz tlenu azotu zapobiega zmniejszeniu aktywności wątrobowych enzymów antyoksydacyjnych i powstawaniu nadtlenu (22).

Tlenek azotu posiada bardzo istotne znaczenie w procesach emocjonalnych i poznawczych tzn. uczenia się, zapamiętywania i odtwarzania pamięci. Procesy te przebiegają ściśle w powiązaniu z neuronalnym działaniem glutaminianu. Glutaminian jest jednym z najważniejszych przekaźników działających w transmisji synaptycznej na receptory struktur układu odpowiedzi emocjonalnej, w których następuje także aktywacja różnych form pamięci. Uważa się, że ten główny wykładnik ośrodkowej odpowiedzi emocjonalnej bierze udział w ok. 75% neurotransmisji pobudzającej w ośrodkowym układzie nerwowym. Jest on najważniejszym neuroprzekaźnikiem z grupy EAA (Excitatory Amino Acids).

Tlenek azotu pełni istotną pośrednią rolę w stymulacji receptorów glutaminianowych: iGluR (NMDA i AMPA) oraz mGluR. Aktywuje on rozpuszczalną cyklazę guanylową wrażliwą na tlenek azotu (nitric-oxide-sensitive soluble guanylyl cyclase – NOGC) wpływając na uwalnianie glutaminianu z neuronów presynaptycznych. Powszechnie uznawanym jest mechanizm aktywacji cNOS przez kompleksy wapń-kalmodulina. Ostatnio doniesiono również o dodatkowej możliwości aktywacji nNOS przez Ca^{2+} . Wskutek przepływu Ca^{2+} przez kanał NMDA dochodzi do fizycznego oddziaływania receptora na nNOS poprzez pośredniczące białko adaptorowe

PSD-95 i białko CAPON związane z nNOS (15, 19).

Tlenek azotu działa w obrębie synaps glutaminoergicznych nie tylko jak klasyczny neuroprzekaźnik, lecz także wstecznie oraz wewnątrzkomórkowo. Jego produkcja wzrasta po stymulacji obu typów receptorów glutaminianowych. Ten molekularny mechanizm wzajemnego oddziaływania, związany z procesami emocjonalnymi i poznawczymi, został wykazany w licznych strukturach mózgu i w mózdzku (15).

Aktywacja nNOS ma miejsce podczas zjawisk długotrwałej modyfikacji aktywności synaptycznej: LTP (long-term potentiation) i LTD (long-term depression), będących kluczowymi procesami tworzenia pamięci. LTP i LTD wykazano *in vitro* w korze przedczołowej, ciele migdałowatym, hipokampie, w prążkowie i w mózdzku. LTP wywołano także *in vivo* w ciele migdałowatym i prążkowie (15, 16). Rola aktywacji nNOS w LTP i LTD polega nie tylko na implikowaniu, poprzez powstający NO, uwalniania glutaminianu z neuronu i pobudzania GluR. Enzym ten jest źródłem anionu nadtlenkowego, który wraz z NO powoduje powstanie bardzo silnego utleniacza – anionu nadtlenoazotanu (III) – OONO⁻ (peroxynitrite). Każdy z trzech wymienionych związków: rodnik nadtlenkowy, NO, rodnik nadtlenoazotanu (III) odgrywa rolę w modulacji LTP i LTD. Tak więc najnowsze odkrycia biologii molekularnej zrywają z wizją wolnych rodników tlenowych jako związków jednoznacznie szkodliwych dla funkcji neuronu (21).

Zważywszy rolę jaką pełnią tlenek azotu i kwas glutaminowy w odpowiedzi na działanie bodźców emocjonalnych badano z powodzeniem stężenia glutaminianu i aktywność syntezy tlenu azotu w różnych częściach układu limbicznego mózgow szczyurów uśmiercanych po działaniu czynników stresogennych oraz w warunkach całkowitego spokoju (15,16). Badania te, obecnie kontynuowane, być może pozwolą w przyszłości na pośmiertną ocenę stanu emocjonalnego poprzedzającego bezpośrednio zgon. Są one także próbą zbliżenia się do wyjaśnienia ciągle niejasnych mechanizmów towarzyszącym procesom LTP i LTD.

Interesujące są doniesienia o roli tlenu azotu w patogenezie różnych chorób centralnego układu nerwowego np. w chorobach neurodegeneracyjnych (stwardnienie zanikowe boczne, choroba Alzheimera, choroba Parkinsona oraz choroba Huntingtona). Zwiększona stymulacja receptorów glutaminianowych może prowadzić do śmierci neuronów w mechanizmie implikującym powstawanie anionu nadtlenoazotanu (III). W odpowiedzi na cytokiny i lipopolisacharydy komórki glejowe również mogą syntetyzować znaczną ilość NO, który oddziałuje na sąsiadujące neurony i oligodendrocyty. Powstały anion nadtlenoazotanu (III) może uszkadzać mitochondria i genom komórki. Doświadczenia z inhibitorami NOS sugerują ich kliniczną skuteczność w przypadku zaburzeń neurologicznych o podłożu ekscytotoksycznym (2).

Na modelu doświadczalnym mysiego stwardnienia rozsianego wykazano, że NO i anion nadtlenoazotanu (III) powodują degradację białek strukturalnych i funkcjonalnych uszkodzonych neurocytów w mechanizmie najprawdopodobniej apoptozy, a więc mogą one służyć jako czynniki eliminujące komórki zmienione zapalnie w centralnym układzie nerwowym (26).

W patogenezie choroby Alzheimera niektórzy badacze postulują neurotoksyczne działanie NO produkowanego przez śródbłonek drobnych mikrotętniczek mózgowych w mechanizmie martwicy neurocytów, a nie apoptozy (14).

W pracy tej przedstawiono tylko najważniejsze aspekty roli tlenu azotu oraz jego znaczenie w przypadku śmierci organelli komórkowych (zwłaszcza mitochondriów) i komórek (w mechanizmie nekrozy bądź apoptozy), co prowadzi do zaburzeń funkcji wielu narządów, leżących u podstaw licznych jednostek chorobowych aż do śmierci osobniczej. Większość z tych aspektów dotyczy szeregu różnych patomechanizmów, znajduje się przeto w polu zainteresowania medycyny sądowej.

Postępujący rozwój biologii molekularnej oraz wdrażanie nowoczesnych technik mogą pomóc w rozwikłaniu tajemnicy życia i śmierci.

PIŚMIENNICTWO:

1. Baumgartner W.A., Redmond M., Brock M., Tseng E., Blue M.E., Troncoso J.C., Johnston M.V.: Pathophysiology of cerebral injury and future management. *J. Card. Surg.* 1997, 12(2 Suppl), 300–310.
- 2. Bidmon H.–J., Wu J., Buchkremer–Ratzmann I., Mayer B., Witte O.W., Zilles K.: Transient changes in the presence of nitric oxide synthases and nitrotyrosine immunoreactivity after focal cortical lesions. *Neuroscience*, 1998, 82(2), 377–395.
- 3. Cahn A.: Le monoxyde d'azote endogène prévient les thromboses glomérulaires induites par l'endotoxine. *Medecine Science*, 1993, 9, 224.
- 4. Chuang A.T., Strauss J.D., Murphy R.A., Steers W.D.: Sildenafil, a novel inhibitor of phosphodiesterase type 5 in human corpus cavernosum smooth muscle cells. *Life Sci.*; 1998, 62 (20), 309–318.
- 5. Crepel F., Lemaire G.: Le monoxyde d'azote. *Medecine Sciences*, 1995, 11, 1639–1642.
- 6. Crews F.T., Steck J., Chandler L.J., Yu C.J., Day A.: Ethanol, stroke, brain damage and excitotoxicity. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1998, 59(4), 981–991.
- 7. Dembińska-Kieć A.: Biosynteza i fizjologiczna funkcja tlenu azotu. W: Konarska L.(ed): *Molekularne mechanizmy przekazywania sygnałów w komórce*. PWN, Warszawa, 1995, 177–189.
- 8. Dreyfus J.C.: Les effets renaux du monoxyde d'azote (NO). *Medecine Sciences*, 1993, 9, 343.
- 9. Ford H., Watkins S., Reblock K., Rowe M.: The role of inflammatory cytokines and nitric oxide in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis., *J. Pediatr. Surg.* 1998, 32(2), 275–278.
- 10. Fukuchi M., Hussain S.N., Giaid A.: Heterogenous expression and activity of endothelial and inducible nitric oxide synthases in end-stage human heart failure: their relation to lesion site and beta-adrenergic receptor therapy. *Circulation*, 1998, 98(2), 132–139.
11. Garthwaite J., Boulton C.L.: Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Ann. Rev. Physiol.*, 1995, 57, 683–706.
- 12. Gibbons G.H.: Vasculoprotective and cardioprotective mechanism of angiotensin–converting enzyme inhibition: the homeostatic balance between angiotensin II and nitric oxide. *Clin. Cardiol.*, 1997, 20 (11 Suppl 2), 18–25.
- 13. Goureau O., Courtois Y.: Monoxyde d'azote et retine: un mediateur aux deux visages. *Medecine Sciences*,

- 1996, 12, 593–598. –14. Grammas P., Botchlet TR., Moore P., Weigel P.H.: Production of neurotic factors by brain endothelium in Alzheimer's disease. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1997, 826, 47–55. –15. Hauser R., Gos T., Krzyżanowski M.: Neurobiology – can it help forensic medicine: The function of selected neurotransmitters in the forming of central emotional response. *Z Zagadnień Nauk Sądowych*, 1998, 37, 9–27. –16. Hauser R., Gos T., Krzyżanowski M., Goyke E.: The concentration of glutamate in cerebral tissue as a factor for the assesment of the emotional state before death. A preliminary report. *Int. J. Legal. Med.* (in press). –17. Iwahashi H., Itoh N., Yamagata K., Imagawa A., Nakajima H., Tomita K., Moriwaki M., Waguri M., Yamamoto K., Miyagawa J., Namba M., Hanafusa T., Matsuzawa Y.: Molecular mechanism of pancreatic beta-cell destruction in autoimmune diabetes: potential targets for preventive therapy. *Cytokines Cell. Mol. Ther.*, 1998, 4(1), 45–51. –18. Jablonka-Schariff A., Olson L.M.: Hormonal regulation of nitric oxide synthases and their cell-specific expression during follicular development in the rat ovary. *Endocrinology*, 1997, 138 (1), 460–468. –19. Jaffrey S.R., Snowman A.M., Eliasson M.J., Cohen N.A., Snyder S.H., (1998) CAPON: a protein associated with neuronal nitric oxide synthase that regulates its interactions with PSD95. *Neuron.*, 20, 115–124. –20. Kettler M., Cetto C., Kirdorf M., Jeschke G.S., Schafer J.H., Distler A.: Nitric oxide in sepsis syndrome: potential treatment of septic shock by nitric oxide synthase antagonists. *Kidney Int. Suppl.*, 1998, 64, 27–30.
21. Klann E., Roberson E.D., Knapp L.T., Sweatt J.D.: A role for superoxide in protein C activation and induction of long-term potentiation. *J. Biol. Chem.*, 1997, 273 (8), 4516–4522. –22. Kosenko E., Kaminsky Y., Lopata O., Muravyov N., Kaminsky A., Hermenegildo C., Felipe V.: Nitroarginine, an inhibitor of nitric oxide synthase, prevents changes in superoxide radical and antioxidantenzymes induced by ammonia intoxication. *Metab. Brain Dis.*, 1998, 13(1), 29–41. –23. Mellander S., Bjornberg J., Ekelund U., Alm P.: Cardiovascular regulation of endogenous nitric oxide is essential for survival after acute haemorrhage. *Acta Physiol. Scand.*, 1997, 160(1), 57–65(8). –24. Nava E., Salazar F.J.: Comparative effects of nitric oxide synthesis inhibition and catecholamine treatment in a rat model of endotoxin shock. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1997, 27 (8), 673–679. –25. Nussler A.K., Billiar T.R.: Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J. Leukoc. Biol.*, 1993, 54, 171–178. –26. 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.*, 1997, 73(1–2), 107–116. –27. Poyrad C., Bursaux E.: L'hémoglobine, le NO, les complexes proteiques nitrosyles et la regulation de la pression vasculaire. *Medecine Sciences*, 1996, 12, 848–850. –28. Rixen D., Siegel J.H., Espina N., Bertolini M.: Plasma nitric oxide in posttrauma critical illness: a function of „sepsis” and the physiologic state severity classification quantyfing the probability of death. *Shock*, 1997, 7(1), 17–28. –29. Rosselli M., Keller P.J., Dubey R.K.: Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum. Reprod. Update*, 1998, 4 (1), 3–24. –30. Snyder S., Bredt D.: Les fonctions biologiques du monoxyde d'azote. *Pour La*

Science, 1992, 177, 70–77.

31. Tews D.S., Goebel H.H.: Cell death and oxidative damage in inflammatory myopathies. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1998, 87(3), 240–247.
–32. Wilcox J.N., Subramanian R.R., Sundell C.L., Tracey W.R., Pollock J.S., Harrison D.G., Marsden P.A.: Expression of multiple isoforms of nitric oxide synthase in normal and atherosclerotic vessels. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1997, 17 (11), 2479–2488.

Adres pierwszego autora:
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM w Gdańsku
80–210 Gdańsk
ul. Skłodowskiej-Curie 3A