

ROLA TLENKU AZOTU W INWAZJACH PASOŻYTNICZYCH

ELŻBIETA WANDURSKA-NOWAK

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego, ul. Fredry 10, 61-701 Poznań

ABSTRACT. The role of nitric oxide (NO) in parasitic infections. Nitric oxide (NO) has been shown to play a crucial role in various physiological and pathological conditions. NO plays a role in the immunoregulation and it is implicated in the host non-specific defence in a variety of infections. Abundant evidence indicates that NO contributes to the host defence function of macrophages. High levels of NO are mediated by up-regulated expression of the iNOS gene in response to the activating signals, in particular to the secretion of pro-inflammatory cytokines (IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-2) by Th1 cells.

In this review, the role of NO during a number of parasitic infections has been summarized. Up to now, enhanced levels of NO production and expression of iNOS gene have been described in such infective diseases as malaria, toxoplasmosis, leishmaniosis, trypanosomosis and schistosomosis. During these infections, the preferential production of pro-inflammatory cytokines predisposes to the increased synthesis of NO, which mediates host protection through either direct parasite killing or by limiting parasite growth. The evidence presented in this review supports the conclusion that NO plays an important role in the majority of parasitic infections.

Key words: inducible synthase of nitric oxide, nitric oxide, parasitic infections.

Tlenek azotu (NO) jest wszechstronnym regulatorem wielu procesów zachodzących w żywych organizmach (Moncada i wsp. 1991, Nathan 1992, Langrehr i wsp. 1993, Anggard 1994, Gross i Wolin 1995, Whittle 1995, Bredt 1999). Jako uniwersalny przekaźnik wewnątrzkomórkowy NO jest unikatową cząsteczką sygnałową. NO może jednak również wykazywać właściwości cytotoksyczne, szczególnie gdy występuje w nadmiarze. NO jest ważną cząsteczką efektorową w niezależnej od przeciwciał odpowiedzi immunologicznej stymulowanej przez limfocyty Th. Udział w mechanizmach obronnych zwalczających czynniki infekcyjne jest jedną z najważniejszych funkcji NO. Rola NO w układzie immunologicznym jest unikatowa, ponieważ NO działa niespecyficznie i może uszkadzać każdą komórkę oraz każdy patogen. Endogenną syntezę NO w komórkach ssaków odkryto w 1980 roku (Furchgott i Zawadzki 1980). Wydzielanie NO przez aktywowane makrofagi myszy po raz pierwszy opisano w 1985 roku (Stuehr i Marletta 1985). Do tej pory uważano, że jedyny biochemiczny mechanizm cytotoksyczności makrofagów, aktywowanych przez limfocyty T, polega na produkcji reaktywnych form tlenu przez oksydazę NADPH. Hibbs i wsp. (1987) zauważyli, że cytotoksyczność makrofagów,

skierowana przeciwko komórkom nowotworowym, jest zależna od L-argininy, a cząsteczką efektorową tej cytotoksyczności jest właśnie NO. Obecnie powszechnie uznaje się, że poza aktywowanymi makrofagami, wiele innych komórek ssaków także syntetyzuje endogennie NO (np. neutrofile, komórki Kupfera, hepatocyty, fibroblasty, komórki śródbłonna). W roku 1992 NO został ogłoszony przez "Science" molekułą roku, a sześć lat później nagroda Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny została przyznana za badania nad rolą NO jako cząsteczką sygnałową w układzie krążenia R. Furchgottowi, L. Ignarro i F. Muradowi.

Wytwarzanie NO w żywych organizmach zachodzi dzięki złożonej reakcji enzymatycznej, w której syntaza NO (NOS, EC 1.14.13.39) doprowadza do przekształcenia L-argininy w L-cytrulinę z uwolnieniem cząsteczki NO (Kroncke i wsp. 1995). Istnieją trzy podstawowe izoformy NOS: dwie formy konstytutywne (neuralna NOS = NOS1 i endotelialna NOS = NOS3) oraz forma indukowalna (iNOS = NOS2). Indukcja iNOS prowadzi do syntezy dużych ilości NO, a jej aktywność nie zależy od stężenia jonów wapnia (Butler i Williams 1993, Kroncke i wsp. 1995). NO wytwarzany przy udziale iNOS pośredniczy w mechanizmach obronnych i wpływa na przebieg procesów zapalnych, charakterystycznych m.in. dla wielu różnych inwazji pasożytniczych. Ekspresja genu iNOS jest preferencyjnie stymulowana przez cytokiny prozapalne (interferon gamma, interleukiny 1, 2 i czynnik martwicy nowotworu), ułatwiające rozwój reakcji zapalnych i wydzielane głównie przez limfocyty Th1.

Mechanizm działania NO obejmuje szeroki zakres reakcji chemicznych. NO może działać w sposób pośredni, aktywując cyklazę guanylanową i syntezę cyklicznego GMP, który z kolei aktywuje niektóre enzymy: kinazy i fosfodiesterazy oraz kanały jonowe, doprowadzając do zmian w stężeniu jonów wapnia w komórkach. NO może także działać w sposób bezpośredni, poprzez S-nitrozylację białek (nitrozylacja grup SH w białkach jest fizjologicznym markerem podwyższonej produkcji NO w organizmie). Mechanizm cytotoksyczności NO polega albo na S-nitrozylacji, albo na wytwarzaniu nadtlenoazotynu, który jest bardzo silnym utleniaczem. Wysookie stężenie NO stymuluje w mitochondriach produkcję tlenu cząsteczkowego i anionorodnika ponadtlenkowego. Efekt toksyczny NO wynika głównie z działania produktów jego reakcji z anionorodnikiem ponadtlenkowym lub z tlenem cząsteczkowym. Nadtlenoazotyny m.in. wywołują peroksydację lipidów w błonach komórkowych (doprowadzając do uszkodzenia tych błon i zmian ich przepuszczalności) oraz doprowadzają do uszkodzenia DNA. NO, wywołując poprzez S-nitrozylację utratę wewnątrzkomórkowego żelaza, może inaktywować kluczowe enzymy ważnych szlaków metabolicznych pasożyta, np. enzymy szlaków wytwarzania energii (w ten sposób NO hamuje oddychanie komórkowe i syntezę ATP) albo pewne enzymy szlaku syntezy DNA.

Produkcja NO przy udziale iNOS w trakcie odpowiedzi immunologicznej musi podlegać szczególnej kontroli i wymaga ścisłej regulacji. NO bowiem, jako bardzo

silny immunomodulator, może wywierać efekty niepożądane. Sam NO może hamować aktywność iNOS. Jest to przykład najkrótszej pętli ujemnego sprzężenia zwrotnego, w którym produkt enzymu jest równocześnie jego inhibitorem. W ten sposób NO może zahamować reakcję zapalną przez obniżenie produkcji cytokin prozapalnych wywierając wpływ antyproliferacyjny na limfocyty Th i hamując ekspansję limfocytów Th1 (Taylor-Robinson i wsp. 1994, Wei i wsp. 1995, Huang i wsp. 1998). Podwyższona produkcja NO przy udziale iNOS jest przyczyną wielu mechanizmów patofizjologicznych, biorących udział w immunosupresji oraz w procesach zapalnych (Bogdan 1998). Lista chorób, w których przebiegu zaobserwowano indukcję iNOS, coraz bardziej rozszerza się i m.in. obejmuje przewlekłe stany zapalne (np. chroniczne wrzodziejące zapalenie jelita), choroby autoimmunizacyjne (np. artretyzm, astmę, autodestrukcję trzustki w cukrzycy typu I), pewne choroby neurodegeneracyjne (chorobę Alzheimera, chorobę Huntingtona, chorobę Parkinsona, stwardnienie rozsiane, demencję), choroby wirusowe i bakteryjne oraz takie choroby pasożytnicze, jak: malaria (Chiwakata i wsp. 2000, Maneerat i wsp. 2000), toksoplazmoza (Gazzinelli i wsp. 1993; Hayashi i wsp. 1996 a, b), leiszmanioza (Stenger i wsp. 1994), trypanosomozy (Rottenberg i wsp. 1996, Holscher i wsp. 1998), pełzakowica wątrobowa (Jarillo-Luna i wsp. 2002) i schistosomoza (Brunet i wsp. 1999).

NO, wytwarzany w procesach obronnych żywiciela podczas inwazji pasożytniczych, może wywierać wpływ zarówno korzystny, jak i niepożądany dla żywiciela. NO wykazuje dualizm funkcji w zależności m.in. od czasu i ilości jego produkcji oraz od biologicznego środowiska, do którego jest uwalniany. NO, regulując reakcje zapalne i pełniąc funkcje czynnika pasożytoobójczego (NO jest mediatorem procesów obronnych żywiciela poprzez bezpośrednie zabicie pasożyta lub poprzez ograniczenie jego rozwoju), wykazuje właściwości obronne. Wykazano już korzystny wpływ NO na przebieg różnych inwazji pasożytniczych, zarówno wywołanych przez pierwotniaki, jak i helminty. Jednak produkowany w nadmiernej ilości NO staje się czynnikiem cytotoksycznym nie tylko dla pasożyta, ale także dla komórek żywiciela, wywołując procesy patofizjologiczne, uszkadzające różne tkanki żywiciela. Komórki żywiciela wykazują zróżnicowaną podatność na toksyczny wpływ NO (np. komórki jelita są bardziej wrażliwe niż hepatocyty). Podobnie komórki pasożyta mogą różnić się wrażliwością na wpływ NO. Organizm żywiciela musi utrzymać równowagę pomiędzy działaniem pasożytoobójczym NO, a jego wpływem cytotoksycznym, wywieranym na własne tkanki. Gdy żywiciel wyprodukuje zbyt wiele NO, to może wystąpić zaostrzenie i nasilenie zmian chorobowych. Z drugiej jednak strony, jeśli zarażony organizm nie wyprodukuje odpowiedniej ilości NO, to liczba pasożytów pozostanie wysoka, mogąc doprowadzić do śmierci żywiciela. Czas trwania syntezy NO różni się w zależności od rodzaju inwazji. O wpływie NO na organizm żywiciela decyduje przede wszystkim stan równowagi pomiędzy stężeniem produkowanego NO a stężeniem wydzielanych cytokin.

Pasożyty wywołują różne typy odpowiedzi immunologicznej. Większość pasożytów wywołuje reakcje zapalne w organizmie żywiciela, dlatego wzrost produkcji NO w tkankach żywiciela występuje powszechnie w różnych pasożytozach. Pasożytnicze pierwotniaki na ogół indukują odpowiedź z przewagą udziału limfocytów Th1, które produkują cytokiny prozapalne, indukujące ekspresję genu iNOS (IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-2). Natomiast pasożytnicze helminty indukują głównie odpowiedź z przewagą udziału limfocytów Th2, które produkują cytokiny przeciwzapalne, hamujące ekspresję genu iNOS (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, TGF- β) z równoczesnym rozwojem eozynofilii, mastocytozy i wzrostem syntezy przeciwciał klasy IgE. Wydaje się więc, że znaczenie NO w inwazjach pasożytniczych helmintów, w odróżnieniu od znaczącej roli NO w zarażeniach pasożytniczymi pierwotniakami, jest ograniczone. Jednak wyniki dotychczasowych badań sugerują udział NO także w tych inwazjach. Wydaje się, że odpowiedź Th2-zależna, która może hamować wytwarzanie NO przy udziale iNOS, pełni ważną funkcję w regulacji produkcji NO w organizmie żywiciela, ograniczając potencjalną cytotoksyczność NO.

Znaczny wzrost produkcji NO przy udziale iNOS może doprowadzić do immunosupresji (Mills 1991, Oswald i wsp. 1994, Kroncke i wsp. 1995), która sprzyja przeżyciu pasożyta w organizmie żywiciela. Zasugerowano już udział NO w wywołaniu immunosupresji podczas ostrej fazy trypanosomozy wywołanej przez *Trypanosoma brucei* (Sternberg i McGuigan 1992, Schleifer i Mansfield 1993, Sternberg i wsp. 1994, Mabbott i wsp. 1995), podczas wczesnej i ostrej fazy toksoplazmozy (Candolfi i wsp. 1994), podczas malarii (Rockett i wsp. 1994, Ahvazi i wsp. 1995, Clark i Rockett 1996), podczas inwazji *Echinococcus multilocularis* u myszy (Dai i Gottstein 1999) oraz podczas inwazji *Brugia pahangi* u myszy (O'Connor i wsp. 2000).

Moncada i wsp. (1991) zasugerowali udział szlaku przemian L-arginina:NO w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej przeciwko różnym czynnikom infekcyjnym. Rosnąca liczba obserwacji potwierdza udział NO w mechanizmach obronnych żywiciela w przebiegu różnych chorób pasożytniczych (James i Hibbs 1990, James 1991 i 1995, Liew i Cox 1991, Liew 1993, Oswald i wsp. 1994, Clark i Rockett 1996, Bogdan 1997 i 1998, Bogdan i wsp. 2000, Brunet 2001). Dotychczas udokumentowano udział NO w mechanizmach obronnych żywiciela skierowanych przeciwko pasożytniczym pierwotniakom wewnątrzkomórkowym, takim jak *Leishmania* spp., *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* i *Plasmodium* spp.. Cytotoksyczną aktywność NO wydzielanego przez aktywowane makrofagi, skierowaną przeciwko pasożytom tkankowym, w warunkach *in vitro* i *in vivo*, opisano w przypadku *Leishmania major* (Green i wsp. 1990, Liew i wsp. 1990, Cillari i wsp. 1994, Stenger i wsp. 1994, Stenger i wsp. 1996), *Trypanosoma cruzi* (Munoz-Fernandez i wsp. 1992, Petray i wsp. 1994, Vespa i wsp. 1994, Rottenberg i wsp. 1996), *Toxoplasma gondii* (Adams i wsp. 1990), *Plasmodium berghei* (Mellouk i wsp. 1991), *P. vinckei* (Motard i wsp. 1993), *P. falciparum* (Rockett i wsp. 1991, Naotunne

i wsp. 1993) oraz *P. vivax* (Naotunne i wsp. 1993). Wykazano także cytotoksyczność NO wydzielanego przez aktywowane makrofagi skierowaną przeciwko pasożytom pozakomórkowym, zarówno takim jak pierwotniaki: *Trypanosoma brucei* (Vincendeau i wsp. 1992, Sternberg i wsp. 1994), *Naegleria fowleri* (Fischer-Stenger i Marciano-Cabral 1992), *Entamoeba histolytica* (Denis i Ghadirian 1992, Lin i Chadee 1992, Lin i wsp. 1994, Wang i wsp. 1994), jak i helminty: *Schistosoma mansoni* (James i Glaven 1989, Oswald i wsp. 1992), *Echinococcus multilocularis* (Kanazawa i wsp. 1993), *Brugia malayi* (Rajan i wsp. 1996, Taylor i wsp. 1996, Thomas i wsp. 1997) oraz *Onchocerca lienalis* (Taylor i wsp. 1996).

Powszechnie uważa się, że poziom całkowitego tlenu azotu w surowicy jest dobrym wskaźnikiem produkcji NO przy udziale iNOS: stężenie NO w surowicy jest bowiem konsekwencją stężenia NO w całym organizmie. Podwyższony poziom NO w surowicy żywiciela opisano już w przebiegu malarii, zarówno u zwierząt, jak i u ludzi. W surowicy ludzi zarażonych *Plasmodium falciparum* opisano, dwu- do trzykrotnego, wzrost poziomu NO (Cot i wsp. 1994, Nussler i wsp. 1994, Prada i Kremsner 1995, Anstey i wsp. 1996, Kremsner i wsp. 1996). W surowicy myszy zarażonych *Plasmodium* opisano także podobny wzrost poziomu NO (Motard i wsp. 1993, Taylor-Robinson i wsp. 1993, Rockett i wsp. 1994, Prada i Kremsner 1995, Favre i wsp. 1999). Czterokrotnie podwyższony poziom NO w surowicy żywiciela notowano również w ostrej fazie trypanosomatozy wywołanej przez *Trypanosoma cruzi* u myszy (Vespa i wsp. 1994, Rottenberg i wsp. 1996). Trzykrotny wzrost poziomu NO zaobserwowano także w surowicy myszy po ich zarażeniu *Entamoeba histolytica* (Jarillo-Luna i wsp. 2002). Poziom NO w surowicy myszy rósł przez pierwsze 6 godzin po inokulacji żywymi pełzakami, następnie opadał i osiągał wartość kontrolną w 10. dniu po zarażeniu. Podwyższenie poziomu NO w surowicy żywiciela dotyczy nie tylko przypadków zarażeń pasożytniczymi pierwotniakami, ale i helmintami. Wzrost poziomu NO odnotowano w surowicy pacjentów zarażonych larwami tasiemca *Echinococcus granulosus*, u których stwierdzono obecność torbieli w wątrobie i płucach (Touil-Boukoffa i wsp. 1998), a także w surowicy pacjentów zarażonych *Loa loa* i *Onchocerca volvulus* (Winkler i wsp. 1998) oraz w surowicy zwierząt zarażonych *Trichinella spiralis* (Hogaboam i wsp. 1996, Lawrence i wsp. 2000, Wandurska-Nowak i Wiśniewska 2002).

Rola NO w malarii

W trakcie malarii, zarówno u ludzi jak i u zwierząt, obserwuje się wzrost produkcji cytokin prozapalnych i w konsekwencji wzrost syntezy NO przy udziale iNOS. NO pośredniczy w zabijaniu obecnych w hepatocytach żywiciela stadiów schizogonii pozakrwinkowej *Plasmodium* spp., wykazuje więc właściwości obronne dla żywiciela (Taylor-Robinson i wsp. 1993, Cot i wsp. 1994, Prada i Kremsner 1995, Tsuji i wsp. 1995, Anstey i wsp. 1996, Kremsner i wsp. 1996).

Z drugiej jednak strony uważa się, że NO produkowany przy udziale iNOS bierze udział w patogenezie malarii mózgowej, wywołanej inwazją *P. falciparum* (Clark i Rockett 1996, Chiwakata i wsp. 2000, Maneerat i wsp. 2000). Być może sekwestracja pasożytów w naczyniach krwionośnych mózgu i zator tych naczyń wywołują dodatkowy wzrost produkcji cytokin prozapalnych, co doprowadza do lokalnego wzrostu syntezy NO m.in. w komórkach endotelialnych i w przylegających leukocytach. Normalne funkcjonowanie mózgu może zostać zakłócone przez długotrwałą produkcję dużych ilości NO na jego obszarze.

Sugeruje się także udział NO w wywoływaniu immunosupresji podczas malarii (Rockett i wsp. 1994, Ahvazi i wsp. 1995, Clark i Rockett 1996).

Rola NO w toksoplazmozie

W trakcie toksoplazmozy w organizmie żywiciela także obserwuje się wzrost produkcji cytokin prozapalnych i wzrost syntezy NO przy udziale iNOS. W zależności od fazy tej inwazji pasożytniczej, NO wykazuje dualizm funkcji (Hayashi i wsp. 1996 a; Khan i wsp. 1996, 1997; Scharon-Kersten i wsp. 1997). Podczas wczesnej i ostrej fazy choroby dominuje wpływ niepożądany NO na organizm żywiciela: NO pośredniczy w wywoływaniu zmian patofizjologicznych w jelicie i wątrobie zarażonych myszy (Khan i wsp. 1997) oraz bierze udział w wywoływaniu immunosupresji (Candolfi i wsp. 1994). Równocześnie NO jako czynnik cytotoksyczny dla pasożyta może ograniczać wzrost liczby pasożytów.

W przewlekłej fazie toksoplazmozy NO ogranicza zmiany patologiczne w centralnym układzie nerwowym zarażonych myszy, a zahamowanie produkcji NO (po podaniu inhibitora iNOS) doprowadza do wzrostu liczby pasożytów oraz nasilenia odczynów zapalnych w mózgu (Hayashi i wsp. 1996 a).

Zasugerowano także ochronną funkcję NO w przebiegu toksoplazmozy ocznej u myszy, u których stwierdzono zaostrenie zmian zapalnych w gałkach ocznych po zahamowaniu produkcji NO przez inhibitor iNOS, podany zarażonym zwierzętom (Hayashi i wsp. 1996 b).

Sugeruje się również, że NO w przewlekłej toksoplazmozie u myszy może pełnić funkcję czynnika inicjującego przekształcenie stadiów rozwojowych pasożyta (bradyzoitów w tachyzoity) podczas reaktywacji cyst *T. gondii* (Bohne i wsp. 1994). Zaobserwowano dodatnią korelację reaktywacji przewlekłej toksoplazmozy u myszy w ostrą postać mózgową z obniżeniem ekspresji genu iNOS (Gazzinelli i wsp. 1993).

Scharon-Kersten i wsp. (1997) oraz Yap i wsp. (1998) uważają, że NO odgrywa ważną rolę przede wszystkim w przewlekłej, a nie w ostrej fazie toksoplazmozy. Pomimo niekorzystnego dla żywiciela wpływu NO w początkowej fazie toksoplazmozy, jego produkcja wywiera istotnie korzystny wpływ na organizm żywiciela w przewlekłej fazie tej parazytozy u myszy.

Żywiciel w celu ograniczenia szkodliwego wpływu NO podczas toksoplazmozy musi uruchomić współistniejącą odpowiedź przeciwzapalną, która ochroni go przed uszkodzeniem tkanek. Szczególnie ważną rolę w tej odpowiedzi wydaje się odgrywać IL-10, która hamując indukcję iNOS reguluje poziom NO (Suzuki i wsp. 2000).

Rola NO w leiszmaniozie

Podczas leiszmaniozy również obserwuje się wzrost produkcji cytokin prozapalnych i wzrost syntezy NO przy udziale iNOS w organizmie żywiciela. W przebiegu tej pasożytozy wykazano kluczowy udział NO w ograniczaniu liczebności pasożytów; NO eliminuje wewnątrzkomórkowe stadia amastigota *L. major*. O ochronnej dla żywiciela funkcji NO świadczy istnienie dodatniej korelacji pomiędzy opornością myszy na zarażenie a poziomem NO w ich organizmach. Zahamowanie produkcji NO zwiększa podatność na zarażenie (Wei i wsp. 1995, Stenger i wsp. 1996, Huang i wsp. 1998).

Wzrost indukcji iNOS w tkankach zarażonych zwierząt potwierdzono także immunohistochemicznie i wykazano, że w miejscach zmian chorobowych o silnym odczynie dodatnim dla iNOS wystąpił wyraźny spadek liczby pasożytów (Stenger i wsp. 1994).

Rola NO w trypanosomozach

Wykazano, że w tych pasożytozach w organizmie żywiciela występuje wzrost produkcji NO, który pełni rolę ochronną dla żywiciela i pasożytoobójczą dla trypanosom (Munoz-Fernandez i wsp. 1992, Vincendeau i wsp. 1992, Petray i wsp. 1994, Sternberg i wsp. 1994, Vespa i wsp. 1994, Rottenberg i wsp. 1996). Zahamowanie produkcji NO po podaniu inhibitora iNOS doprowadza do wzrostu podatności na zarażenie i do zaostrzenia przebiegu inwazji (Petray i wsp. 1994, Rottenberg i wsp. 1996, Holscher i wsp. 1998).

Istnieją jednak pewne dowody na powiązanie NO ze zmianami patologicznymi w tkankach żywiciela zarówno w przebiegu choroby Chagasa, jak i śpiączki afrykańskiej (Brunet 2001).

Równocześnie znaczny wzrost produkcji NO może wywołać immunosupresję (zahamowanie proliferacji limfocytów T) podczas ostrej fazy choroby wywołanej przez *T. brucei* (Sternberg i McGuigan 1992, Schleifer i Mansfield 1993, Sternberg i wsp. 1994, Mabbott i wsp. 1995).

Rola NO w schistosomozie

Wykazano cytotoksyczność NO, wydzielanego przez aktywowane makrofagi, skierowaną przeciwko schistosomulom *S. mansoni* (James i Glaven 1989, Oswald i wsp. 1992).

Zmiany patofizjologiczne występujące w trakcie tej parazytozy są związane przede wszystkim z zaleganiem jaj pasożyta, niewydalonych z organizmu żywiciela. Wokół jaj, które trafiają do wątroby (*S. mansoni*, *S. japonicum*) lub innych narządów (*S. hematobium* w pęcherzu moczowym żywiciela) powstają ziarniniaki kwasochłonne. Z jednej strony obecność ziarniniaków jest korzystna dla żywiciela, bo ograniczają one uszkodzenie hepatocytów przez antygeny uwalniane z jaj pasożyta. Z drugiej jednak strony liczne zmiany ziarniniakowe wywołują coraz większe zwłóknienia uszkadzające wątrobę. Uważa się, że NO może brać udział w regulacji stanów zapalnych wywołanych przez obecność jaj pasożyta w wątrobie żywiciela i ograniczać uszkodzenie tego narządu przez proces zapalny, wywoływany przez te jaja (Brunet 2001).

We wczesnej, ostrej fazie schistosomozy wywołanej przez *S. mansoni* przeważa odpowiedź Th1-zależna i obserwuje się wówczas podwyższoną ekspresję genu iNOS oraz wzrost produkcji NO w organizmie żywiciela. U myszy zarażonych *S. mansoni* wykazano (Brunet i wsp. 1999) podwyższoną ekspresję genu iNOS i wzrost produkcji NO przez pierwszych 6 tygodni od zarażenia, co powiązano z obecnością jaj pasożyta w wątrobie żywiciela. Zasugerowano, że NO ogranicza uszkodzenie hepatocytów w tej fazie inwazji, natomiast zahamowanie produkcji NO przez podanie inhibitora iNOS wywołuje nasilenie zmian patologicznych w wątrobie żywiciela. W późniejszej fazie, wraz ze wzrostem liczby jaj pasożyta w organizmie żywiciela, następuje indukcja odpowiedzi Th2-zależnej z preferencyjną produkcją cytokin przeciwzapalnych (IL-4, IL-10), a odpowiedź Th1-zależna zostaje zahamowana. W tej sytuacji NO przestaje odgrywać kluczową rolę w ograniczaniu uszkodzeń hepatocytów, a jego ochronną funkcję przejmują cytokiny przeciwzapalne.

Z kolei James i wsp. (1998) sugerują dwoistą rolę NO w zarażeniu *S. mansoni*: z jednej strony NO wykazuje funkcję ochronną, zabijając schistosomule, z drugiej jednak strony może sprzyjać przeżyciu pasożyta poprzez obniżenie odpowiedzi immunologicznej typu komórkowego.

Rola egzogenego NO w inwazjach pasożytniczych

Potencjalnym źródłem NO w żywych organizmach mogą być substancje uwalniające NO (donory NO). W ostatnich latach podjęto szereg badań nad wpływem egzogenego NO na różne pasożyty. Do najczęściej stosowanych donorów NO należą SNAP (S-nitrozo-N-acetyloopenicylamina), SNP (nitroprusydek sodowy) oraz DEA/NO (kompleks sodowy dietylaminy z NO). Dotychczas wykazano toksyczny wpływ tych donorów w warunkach *in vitro* na takie pierwotniaki, jak: *Trypanosoma brucei* (Sternberg i wsp. 1994), *Trypanosoma cruzi* (Vespa i wsp. 1994, Rottenberg i wsp. 1996), *Leishmania major* (Liew i wsp. 1990), *Toxoplasma gondii* (Bohne i wsp. 1994) oraz na różne postaci rozwojowe nicienia *Brugia malayi* (Taylor

i wsp. 1996, Thomas i wsp. 1997). Wyniki tych ostatnich prac wykazały, że egzogenne NO wyraźnie ograniczało ruchliwość oraz żywotność zarówno mikrofilarii, jak i postaci dojrzałych *B. malayi*, a także mikrofilarii *Onchocerca lienalis* (Taylor i wsp. 1996). Z kolei w warunkach *in vivo*, podanie myszom DEA/NO po ich zarażeniu larwami L3 *B. malayi* blokowało przekształcenia tych inwazyjnych larw w postaci dojrzałe (Rajan i wsp. 1996). W przebiegu inwazji *Trichinella spiralis* u myszy obserwowano nasilenie zmian histopatologicznych i reakcji zapalnych w mięśniach zarażonych zwierząt pod wpływem podania egzogenne NO w postaci DEA/NO (Hadaś i wsp. 2002). Także preparaty z grupy azotanów oraz bloker kanału wapniowego, a więc leki powszechnie stosowane w leczeniu dusznicy bolesnej, choroby niedokrwiennej serca, zawału mięśnia sercowego i nadciśnienia tętniczego, mogą być donorami NO. Ostatnio zaobserwowano, że podawanie przez dłuższy czas w trakcie włośnicy doświadczalnej u myszy dużych dawek egzogenne NO, w postaci nitrendypiny i pentaerythritolu, przyczynia się do nasilenia intensywności zarażenia larwami *T. spiralis* (Wandurska-Nowak i wsp. 2003).

WNIOSKI KOŃCOWE

(1) W przebiegu wielu chorób pasożytniczych (malaria, toksoplazmoza, leishmanioza, trypanosomozy, schistosomoza) NO odgrywa ważną rolę. NO może wpływać na organizm żywiciela zarówno korzystnie (pasożytoobójczo), jak i może wywierać efekt niepożądany, doprowadzając do uszkodzenia tkanek żywiciela i/lub wywołując immunosupresję.

(2) Charakter pełnionej przez NO funkcji (korzystny lub niepożądany dla żywiciela) zależy od wielu czynników: rodzaju odpowiedzi immunologicznej żywiciela, produkcji różnych cytokin i innych immunomodulatorów, rodzaju biologicznego środowiska (tkanki będącej siedliskiem pasożyta) oraz czasu i ilości produkowanego NO.

(3) Żywiciel musi utrzymywać ścisłą regulację wytwarzania NO przy udziale iNOS w celu zachowania równowagi pomiędzy działaniem pasożytoobójczym NO, a jego wpływem cytotoksycznym, wywieranym na tkanki żywiciela.

(4) Stan równowagi pomiędzy stopniem syntezy NO przy udziale iNOS a stopniem produkcji różnych cytokin, zarówno przeciwzapalnych, jak i prozapalnych, określa skuteczność odpowiedzi immunologicznej oraz przebieg procesów patofizjologicznych w tkankach żywiciela.

(5) Poszczególne tkanki i komórki różnią się wrażliwością na toksyczny wpływ NO.

LITERATURA

Adams L., Hibbs J., Taintor R., Krahenbuhl J. 1990. Microbiostatic effect on murine-activated

- macrophages for *Toxoplasma gondii*. *The Journal of Immunology* 144: 2725-2729.
- Ahvazi B., Jacobs P., Stevenson M. 1995. Role of macrophage-derived nitric oxide in suppression of lymphocyte proliferation during blood-stage malaria. *Journal of Leukocyte Biology* 58: 23-31.
- Anggard E. 1994. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *The Lancet* 343: 1199-1206.
- Anstey N., Weinberg J., Hassanali M., Mwaikambo E., Manyenga D., Misukonis M., Arnelle D., Hollis D., McDonald M., Granger D. 1996. Nitric oxide in Tanzanian children with malaria: inverse relationship between malaria severity and nitric oxide production/nitric oxide synthase type 2 expression. *Journal of Experimental Medicine* 184: 557-567.
- Bogdan C. 1997. Of microbes, macrophages and nitric oxide. *Behring Institute Mitteilungen* 99: 58-72.
- Bogdan C. 1998. The multiplex function of nitric oxide in (auto)immunity. *Journal of Experimental Medicine* 187: 1361-1365.
- Bogdan C., Rollinghoff M., Diefenbach A. 2000. The role of nitric oxide in innate immunity. *Immunological Reviews* 173: 17-26.
- Bohne W., Heesemann J., Gross U. 1994. Reduced replication of *Toxoplasma gondii* is necessary for induction of bradyzoite-specific antigens: a possible role for nitric oxide in triggering stage conversion. *Infection and Immunity* 62: 1761-1767.
- Bredt D. 1999. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free Radical Research* 31: 577-596.
- Brunet R., Beall M., Dunne D., Pearce E. 1999. Nitric oxide and Th2 response combine to prevent severe hepatic damage during *Schistosoma mansoni* infection. *The Journal of Immunology* 163: 4976-4984.
- Brunet R. 2001. Nitric oxide in parasitic infections. *International Immunopharmacology* 1: 1457-1467.
- Butler A., Williams D. 1993. The physiological role of nitric oxide. *Chemical Society Reviews* 22: 233-241.
- Candolfi E., Hunter C., Remington J. 1994. Mitogen- and antigen-specific proliferation of T cells in murine toxoplasmosis is inhibited by reactive nitrogen intermediates. *Infection and Immunity* 62: 1995-2001.
- Chiwakata C., Hemmer C., Dietrich M. 2000. High levels of inducible nitric oxide synthase mRNA are associated with increased monocyte counts in blood and have a beneficial role in *Plasmodium falciparum* malaria. *Infection and Immunity* 68: 394-399.
- Clark I., Rockett K. 1996. Nitric oxide and parasitic disease. *Advances in Parasitology* 37: 1-56.
- Cillari E., Arcoleo F., Dieli M., D'Agostino R., Gromo G., Leoni F., Milano S. 1994. The macrophage-activating tetrapeptide tuftsin induces nitric oxide synthesis and stimulates murine macrophages to kill *Leishmania* parasites *in vitro*. *Infection and Immunity* 62: 2649-2652.
- Cot S., Ringwald P., Mulder B., Mialhes P., Yap-Yap J., Nussler A., Eling W. 1994. Nitric oxide in cerebral malaria. *The Journal of Infectious Diseases* 169: 1417-1418.
- Dai W., Gottstein B. 1999. Nitric oxide-mediated immunosuppression following murine *Echinococcus multilocularis* infection. *Immunology* 97: 107-116.
- Denis M., Ghadirian E. 1992. Activated mouse macrophages kill *Entamoeba histolytica* trophozoites by releasing reactive nitrogen intermediates. *Microbial Pathogenesis* 12: 193-198.
- Favre N., Ryffel B., Rudin W. 1999. Parasite killing in murine malaria does not require nitric oxide production. *Parasitology* 118: 139-143.
- Fischer-Stenger K., Marciano-Cabral F. 1992. The arginine-dependent cytolytic mechanism plays a role in destruction of *Naegleria fowleri* amoebae by activated macrophages. *Infection and Immunity* 60: 5126-5131.
- Furchgott R., Zawadzki J. 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288: 373-376.
- Gazzinelli R., Eltoun I., Wynn T., Sher A. 1993. Acute cerebral toxoplasmosis is induced by *in vivo*

- neutralization of TNF- α and correlates with the down-regulated expression of inducible nitric oxide synthase and other markers of macrophage activation. *The Journal of Immunology* 151: 3672-3681.
- Green S., Meltzer M., Hibbs J., Nacy C. 1990. Activated macrophages destroy intracellular *Leishmania major* amastigotes by an L-arginine-dependent killing mechanism. *The Journal of Immunology* 144: 278-283.
- Gross S., Wolin M. 1995. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annual Reviews of Physiology* 57: 737-769.
- Hadaś E., Derda M., Wandurska-Nowak E. 2002. Effect of exogenous nitric oxide in experimental trichinellosis. *Parasitology Research* 88: 86-88.
- Hayashi S., Chan Ch., Gazzinelli R., Roberge F. 1996a. Contribution of nitric oxide to the host parasite equilibrium in toxoplasmosis. *The Journal of Immunology* 156: 1476-1481.
- Hayashi S., Chan C., Gazzinelli R., Pham N., Cheung M., Roberge F. 1996b. Protective role of nitric oxide in ocular toxoplasmosis. *British Journal of Ophthalmology* 80: 644-648.
- Hibbs J., Vavrin Z., Taintor R. 1987. L-arginine is required for expression of the activated macrophage effector mechanism causing selective inhibition in target cells. *The Journal of Immunology* 138: 550-565.
- Hogaboam C., Collins S., Blennerhassett M. 1996. Effects of oral L-NAME during *Trichinella spiralis* infection in rats. *American Journal of Physiology* 271: G338-G346.
- Holscher C., Kohler G., Muller U., Mossmann H., Schaub G., Brombacher F. 1998. Defective nitric oxide effector functions lead to extreme susceptibility of *Trypanosoma cruzi*-infected mice deficient in gamma interferon receptor or inducible nitric oxide synthase. *Infection and Immunity* 66: 1208-1215.
- Huang F., Niedbala W., Wei X., Xu D., Feng G., Robinson J., Lam CH., Liew F. 1998. Nitric oxide regulates Th1 cell development through the inhibition of IL-12 synthesis by macrophages. *European Journal of Immunology* 28: 4062-4070.
- James S. 1991. The effector function of nitrogen oxides in host defense against parasites. *Experimental Parasitology* 73: 223-226.
- James S. 1995. Role of nitric oxide in parasitic infections. *Microbiological Reviews* 59: 533-547.
- James S., Glaven J. 1989. Macrophage cytotoxicity against schistosomula of *Schistosoma mansoni* involves arginine-dependent production of reactive nitrogen intermediates. *The Journal of Immunology* 143: 4208-4212.
- James S., Hibbs J. 1990. The role of nitric oxides as effector molecules of parasite killing. *Parasitology Today* 6: 303-305.
- James S., Cheever A., Caspar P., Wynn T. 1998. Inducible nitric oxide synthase-deficient mice develop enhanced type 1 cytokine-associated cellular and humoral immune responses after vaccination with attenuated *Schistosoma mansoni* cercariae but display partially reduced resistance. *Infection and Immunity* 66: 3510-3518.
- Jarillo-Luna R., Campos-Rodriguez R., Tsutsumi V. 2002. *Entamoeba histolytica*: immunohistochemical study of hepatic amoebiasis in mouse. Neutrophils and nitric oxide as possible factors of resistance. *Experimental Parasitology* 101: 40-56.
- Kanazawa T., Asahi H., Hata H., Mochida K., Kagei N., Stadecker M. 1993. Arginine-dependent generation of reactive nitrogen intermediates is instrumental in the *in vitro* killing of protozoa of *Echinococcus multilocularis* by activated macrophages. *Parasite Immunology* 15: 619-623.
- Khan I., Matsuura T., Fonseka S., Kasper L. 1996. Production of nitric oxide is not essential for protection against acute *Toxoplasma gondii* infection in IRF-1^{-/-} mice. *The Journal of Immunology* 156: 636-643.
- Khan I., Schwartzman J., Matsuura T., Kasper L. 1997. A dichotomous role for nitric oxide during acute *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 94: 13955-13960.

- Kremsner P., Winkler S., Wildling E., Prada J., Bienzle U., Graninger W., Nussler A. 1996. High plasma levels of nitrogen oxides are associated with severe disease and correlate with rapid parasitological and clinical cure in *Plasmodium falciparum* malaria. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 90: 44-47.
- Kroncke K., Fehsel K., Kolb-Bachofen V. 1995. Inducible nitric oxide synthase and its product nitric oxide, a small molecule with complex biological activities. *Biological Chemistry* 376: 327-343.
- Langrehr J., Hoffman R., Lancaster J., Simmons R. 1993. Nitric oxide – a new endogenous immunomodulator. *Transplantation* 55: 1205-1212.
- Lawrence C., Paterson J., Wei X., Liew F., Garside P., Kennedy M. 2000. Nitric oxide mediates intestinal pathology but not immune expulsion during *Trichinella spiralis* infection in mice. *The Journal of Immunology* 164: 4229-4234.
- Liew F. 1993. The role of nitric oxide in parasitic diseases. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 87: 637-642.
- Liew F., Millott S., Parkinson C., Palmer R., Moncada S. 1990. Macrophage killing of *Leishmania* parasite *in vivo* is mediated by nitric oxide from L-arginine. *The Journal of Immunology* 144: 4794-4797.
- Liew F., Cox F. 1991. Nonspecific defence mechanism: the role of nitric oxide. *Immunology Today* 12: A17-A21.
- Lin J., Chadee K. 1992. Macrophage cytotoxicity against *Entamoeba* trophozoites is mediated by nitric oxide from L-arginine. *The Journal of Immunology* 148: 3999-4005.
- Lin J., Seguin R., Keller K., Chadee K. 1994. Tumor necrosis factor alpha augments nitric-dependent macrophage cytotoxicity against *Entamoeba histolytica* by enhanced expression of the nitric oxide synthase gene. *Infection and Immunity* 62: 1534-1541.
- Mabbott N., Sutherland I., Sternberg J. 1995. *Parasite Immunology* 17: 143-150.
- Maneerat Y., Viriyavejakul P., Punpoowong B., Jones M., Wilairatana P., Pongponratn E., Turner G., Udomsangpetch R. 2000. Inducible nitric oxide synthase expression is increased in the brain in fatal cerebral malaria. *Histopathology* 37: 269-277.
- Mellouk S., Green S., Nancy C., Hoffman S. 1991. IFN-gamma inhibits development of *Plasmodium berghei* exoerythrocytic stages in hepatocytes by an L-arginine-dependent effector mechanism. *The Journal of Immunology* 146: 3971-3976.
- Mills Ch. 1991. Molecular basis of "suppressor" macrophages. *The Journal of Immunology* 146: 2719-2723.
- Moncada S., Palmer R., Higgs E. 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews* 43: 109-142.
- Motard A., Landau I., Nussler A., Grau G., Baccam D., Mazier D., Targett G. 1993. The role of reactive nitrogen intermediates in modulation of gametocyte infectivity of rodent malaria parasites. *Parasite Immunology* 15: 21-26.
- Munoz-Fernandez M., Fernandez M., Fresno M. 1992. Synergism between tumor necrosis factor and interferon-gamma on macrophage activation for the killing of intracellular *Trypanosoma cruzi* through a nitric oxide-dependent mechanism. *European Journal of Immunology* 22: 301-307.
- Naotunne T., Karunaweera N., Mendis K., Carter R. 1993. Cytokine-mediated inactivation of malarial gametocytes is dependent on the presence of white blood cells and involves reactive nitrogen intermediates. *Immunology* 78: 555-562.
- Nathan C. 1992. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *The FASEB Journal* 6: 3051-3064.
- Nussler A., Eling W., Kremsner P. 1994. Patients with *Plasmodium falciparum* malaria and *Plasmodium vivax* malaria show increased nitrite and nitrate plasma levels. *The Journal of Infectious Diseases* 169: 1418-1419.
- O'Connor R., Jenson J., Devaney E. 2000. NO contributes to proliferative suppression in a murine model of filariasis. *Infection and Immunity* 68: 6101-6107.

- Oswald I., Gazzinelli R., Sher A., James S. 1992. IL-10 synergizes with IL-4 and transforming growth factors-beta to inhibit macrophage cytotoxic activity. *The Journal of Immunology* 148: 3578-3582.
- Oswald I., Wynn T., Sher A., James S. 1994. NO as an effector molecule of parasite killing: modulation of its synthesis by cytokines. *Comparative Biochemistry and Physiology* 108 C: 11-18.
- Petray P., Rottenberg M., Grinstein S., Orn A. 1994. Release of nitric oxide during the experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. *Parasite Immunology* 16: 193-199.
- Prada J., Kremsner P. 1995. Enhanced production of reactive nitrogen intermediates in human and murine malaria. *Parasitology Today* 11: 409-410.
- Rajan T., Porte P., Yates J., Keefer L., Shultz L. 1996. Role of nitric oxide in host defense against an extracellular, metazoan parasite, *Brugia malayi*. *Infection and Immunity* 64: 3351-3353.
- Rockett K., Awburn M., Cowden W., Clark I. 1991. Killing of *Plasmodium falciparum* in vitro by nitric oxide derivatives. *Infection and Immunity* 59: 3280-3283.
- Rockett K., Awburn M., Rockett E., Cowden W., Clark I. 1994. Possible role of nitric oxide in malarial immunosuppression. *Parasite Immunology* 16: 243-249.
- Rottenberg M., Castanos-Velez E., Mesquita R., Laguardia O., Biberfeld P., Orn A. 1996. Intracellular co-localization of *Trypanosoma cruzi* and inducible nitric oxide synthase (iNOS): evidence for dual pathway of iNOS induction. *European Journal of Immunology* 26: 3203-3213.
- Scharton-Kersten T., Yap G., Magram J., Sher A. 1997. Inducible nitric oxide is essential for host control of persistent but not acute infection with the intracellular pathogen *Toxoplasma gondii*. *Journal of Experimental Medicine* 185: 1261-1273.
- Schleifer K., Mansfield J. 1993. Suppressor macrophages in African trypanosomiasis inhibit T cell proliferative responses by nitric oxide and prostaglandins. *The Journal of Immunology* 151: 5492-5503.
- Stenger S., Thuring H., Rollinghoff M., Bogdan C. 1994. Tissue expression of inducible nitric oxide synthase is closely associated with resistance to *Leishmania major*. *Journal of Experimental Medicine* 180: 783-793.
- Stenger S., Donhauser N., Thuring H., Rollinghoff M., Bogdan C. 1996. Reactivation of latent leishmaniasis by inhibition of inducible nitric oxide synthase. *Journal of Experimental Medicine* 183: 1501-1514.
- Sternberg J., McGuigan F. 1992. Nitric oxide mediates suppression of T cell responses in murine *Trypanosoma brucei* infection. *European Journal of Immunology* 22: 2641-2744.
- Sternberg J., Mabbott N., Sutherland I., Liew F. 1994. Inhibition of nitric oxide synthesis leads to reduced parasitemia in murine *Trypanosoma brucei* infection. *Infection and Immunity* 62: 2135-2137.
- Stuehr D., Marletta M. 1985. Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 82: 7738-7742.
- Suzuki Y., Sher A., Yap G., Park D., Neyer L., Liesenfeld O., Fort M., Kang H., Gufwoli E. 2000. IL-10 is required for prevention of necrosis in the small intestine and mortality in both genetically resistant BALB/c and susceptible C57BL/6 mice following peroral infection with *Toxoplasma gondii*. *The Journal of Immunology* 164: 5375-5382.
- Taylor M., Cross H., Mohammed A., Trees A., Bianco A. 1996. Susceptibility of *Brugia malayi* and *Onchocerca lienalis* microfilariae to nitric oxide and hydrogen peroxide in cell-free culture and from IFN-gamma-activated macrophages. *Parasitology* 112: 315-322.
- Taylor-Robinson A., Phillips S., Severn A., Moncada S., Liew F. 1993. The role of Th1 and Th2 cells in a rodent malaria infection. *Science* 260: 1931-1934.
- Taylor-Robinson A., Liew F., Severn A., Xu D., McSorley S., Garside P., Padron J., Phillips R. 1994. Regulation of the immune response by nitric oxide differentially produced by T helper type 1 and T helper type 2 cells. *European Journal of Immunology* 24: 980-984.
- Thomas R., McCrossan M., Selkirk M. 1997. Cytostatic and cytotoxic effects of activated

- macrophages and nitric oxide donors on *Brugia malayi*. *Infection and Immunity* 65: 2732-2739.
- Touil-Boukoffa C., Bauvois B., Sanceau J., Hamrioui B., Wietzerbin J. 1998. Production of nitric oxide (NO) in human hydatidosis: relationship between nitrite production and interferon gamma levels. *Biochimie* 80: 739-744.
- Tsuji M., Miyahira Y., Nussenzweig R., Aguet M., Reichel M., Zavala F. 1995. Development of anti-malaria immunity in mice lacking IFN-gamma receptor. *The Journal of Immunology* 154: 5338-5344.
- Vespa G., Cunha F., Silva J. 1994. Nitric oxide is involved in control of *Trypanosoma cruzi*-induced parasitemia and directly kills the parasite *in vitro*. *Infection and Immunity* 62: 5177-5182.
- Vincendeau P., Daulouede S., Veyret B., Darde M., Bouteille B., Lemesre J. 1992. Nitric oxide-mediated cytostatic activity on *Trypanosoma brucei gambiense* and *Trypanosoma brucei brucei*. *Experimental Parasitology* 75: 353-360.
- Wandurska-Nowak E., Wiśniewska J. 2002. Release of nitric oxide during experimental trichinellosis in mice. *Parasitology Research* 88: 708-711.
- Wandurska-Nowak E., Hadaś E., Derda M., Wojt W. 2003. Effect of nitric oxide releasing drugs on the intensity of infection during experimental trichinellosis in mice. *Parasitology Research* 90: 164-165.
- Wang W., Keller K., Chadee K. 1994. *Entamoeba histolytica* modulates the nitric oxide synthase gene and nitric oxide production by macrophages for cytotoxicity against amoebae and tumour cells. *Immunology* 83: 601-610.
- Wei X., Charles I., Smith A., Ure J., Feng G., Huang F., Xu D., Muller W., Moncada S., Liew F. 1995. Altered immune responses in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Nature* 375: 408-411.
- Whittle B. 1995. Nitric oxide in physiology and pathology. *Histochemical Journal* 27: 727-737.
- Winkler S., El Menyawi I., Linnau K., Graninger W. 1998. Short report: total serum level of the nitric oxide derivatives nitrite/nitrate during microfilarial clearance in human filarial disease. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 59: 523-525.
- Yap G., Scharon-Kersten T., Charest H., Sher A. 1998. Decreased resistance of TNF receptor p55- and p75-deficient mice to chronic toxoplasmosis despite normal activation of inducible nitric oxide synthase *in vivo*. *The Journal of Immunology* 160: 1340-1345.

Zaakceptowano do druku 26 sierpnia 2004