

흰쥐 대뇌피질 절편에서 허혈에 의한 Norepinephrine 유리에 있어서 Nitric Oxide의 영향

김기원¹ · 은영아¹ · 김동찬² · 조규박¹

전북대학교 의과대학 ¹약리학교실 및 ²마취과학교실, 전북대학교 의과학연구소

Role of Nitric Oxide in Ischemia-evoked Release of Norepinephrine from Rat Cortex Slices.

Kee-Won Kim¹, Young Ah Eun¹, Dong-Chan Kim², and Kyu-Park Cho¹ Department of ¹Pharmacology and ²Anesthesiology, Institute for Medical Sciences, Chonbuk National University, Chonju 561-180, Korea

It has been generally accepted that glutamate mediates the ischemic brain damage, excitotoxicity, and induces release of neurotransmitters, including norepinephrine(NE), in ischemic milieu. In the present study, the role of nitric oxide(NO) in the ischemia-induced [³H]norepinephrine([³H]NE) release from cortex slices of the rat was examined. Ischemia, deprivation of oxygen and glucose from Mg²⁺-free artificial cerebrospinal fluid, induced significant release of [³H]NE from cortex slices. This ischemia-induced [³H]NE release was significantly attenuated by glutamatergic neurotransmission modifiers. N^G-nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME), N^G-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) or 7-nitroindazole, nitric oxide synthase inhibitors attenuated the ischemia-evoked [³H]NE release. Hemoglobin, a NO chelator, and 5, 5-dimethyl-L-pyrroline-N-oxide(DMPO), an electron spin trap, inhibited [³H]NE release dose-dependently. Ischemia-evoked [³H]NE release was inhibited by methylene blue, a soluble guanylate cyclase inhibitor, and potentiated by 8-bromo-cGMP, a cell permeable cGMP analog, zaprinast, a cGMP phosphodiesterase inhibitor, and S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP), a nitric oxide generator. These results suggest that the ischemia-evoked [³H]NE release is mediated by NMDA receptors, and activation of NO system is involved.

Key Words: Cerebral ischemia, Norepinephrine release, Nitric Oxide

서 론

뇌허혈은 뇌혈류량의 감소에 따른 뇌조직의 생화학적, 혈류역학적 그리고 전기생리학적인 변동에 의해 그 병태를 정함이 잘 알려져있으며, 뇌허혈에 따른 뇌손상 유발 기전에 있어 여러 신경전도물질들이 관여됨이 보고되어 있다. Zervas 등(1974)은 실험적 허혈뇌에서 dopamine(DA) 함량이 감소되고, Welch 등(1977)은 catecholamine과 5-hydroxytryptamine 등의 농도가 변동되며, 그리고 Adachi 등(1991)은 중대뇌동맥의 폐쇄시 histamine과 monoamine의 대사가 변동된다하여 catecholamine이 뇌허혈의 병인에 관계됨을 시사하였다. 허혈성 뇌손상유발에 대해서 뇌내

여러 종류의 신경전도물질들이 서로 다른 영향을 미침이 알려져 있다. 6-Hydroxydopamine으로 nigrostriatal DA성 신경을 파괴하거나(Globuset al, 1987; Lindvall et al, 1985), α -methyl- β -tyrosine(Weinberger et al, 1985)을 전처리하면 선조체의 허혈손상이 억제됨을 관찰하여 DA이 허혈손상을 악화시킨다 하였다. 그리고 norepinephrine (NE)에 관해서는 Busto 등(1985)은 NE가 허혈성 뇌손상으로부터 회복을 촉진한다하였고, Blomqvist et al(1985)은 locus coeruleus의 NE성 신경과괴에 의해 허혈손상이 강화됨을 관찰하여 NE이 허혈에 대한 보호효과를 갖는다하였다. 따라서 허혈시 신경전도물질대사의 변동양태를 이해하는 것은 허혈의 병인론과 예방 및 치료에 있어 대단히 중요하다.

최근, nitric oxide synthase(NOS)에 의하여 L-arginine(L-Arg)으로부터 생성되는 nitric oxide(NO)가 허혈 또는 허

책임저자 : 김기원, 561-180, 전북 전주시 금암동 산 2-20, 전북대학교 의과대학 약리학교실

혈 후 재관류에 의한 뇌손상과 관련되어있음이 보고되어 있다. 즉 Malinski 등(1993)은 중대뇌동맥 폐쇄 국소성 뇌허혈 모델 흰쥐에서 뇌내 NO함량이 증가된다 하였으며, Dawson과 Snyder(1994) 그리고 Morikawa 등(1994)은 NOS 억제제에 의해 국소성 허혈에 의한 뇌손상이 감소됨을 보고하였다. NO에 의한 뇌손상 유발기전에 관해서 Beckman(1991)과 Dawson 등(1992)은 허혈시 생성되는 superoxide와 NO가 반응하여 만드는 peroxynitrite가 lipid peroxidation을 일으켜 세포에 손상을 유발한다 하였으나, Lafon-Cajal 등(1993)은 superoxide자체가 뇌 손상을 일으킨다 하여 현재까지 그 기전은 명확하게 밝혀져 있지 않다. 그런데 포유류의 신경계에서 NO가 NE 또는 DA성 신경의 활성화에 영향을 미치며(Lauth et al, 1993; Zhu et al, 1992), 더우기 뇌허혈손상을 유발하는 주된 물질로 알려져 있으며, glutamate에 의한 NE의 유리를 매개한다한 Montague 등(1994)의 보고 등은 허혈에 의한 NO의 뇌손상 유발에 있어 세포외액내 신경전달물질 함량조절과 관계가 있음을 시사하는것이다. 그러나 현재 시험관내 허혈에 의한 NE유리에 있어서 NO의 역할은 알려진 바 없다. 따라서 본 연구에서는 허혈의 초기에 손상을 받고, NOS의 존재가 확인되었으며(Bredt et al, 1990), 고밀도의 NE성 신경이 존재하는 대뇌피질에서 허혈에 의한 NE유리에 대한 NO의 역할을 구명하고자 하였다.

실험재료 및 방법

실험 동물로는 웅성 흰쥐(Sprague-Dawley, 200~300 g)를 사용하였다.

흰쥐 대뇌피질 절편에서 [³H]NE의 유리측정

흰쥐를 단두하여 뇌를 적출하고, 대뇌피질을 분리하여 조직절편기(McIlwain)를 사용하여 두께 250 μ m로 종횡으로 절단하여 절편을 얻었다. 절편은 95% O₂와 5% CO₂로 포화시킨 인공뇌척수액(ACSF: 124 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.2 mM MgCl₂, 26 mM NaHCO₃, 12.5 mM KH₂PO₄, 3 mM CaCl₂, 10 mM glucose) 20 ml에 옮겨 plastic transfer pipet으로 진탕하여 2 회 세척하였다. 세척한 절편을 37°C에서 15분간 15 nM의 [³H] norepinephrine(30~50 Ci/mmol) 존재하에 20 ml ACSF에서 배양하였다. 배양된 절편을 3회 ACSF로 세척하였다. 동량(400 μ l, 조직 15~20 mg)의 절편용액을 nylon-mesh를 장치한 24 well tissue culture plate에 옮겨 2 ml의 ACSF 용액 (세척)에서 5분간 방치한 다음, glucose와 MgCl₂를 제한 2 ml의 ACSF 용액 (기저유리 측정)에서 5 분간 위치하여 기저유리를 구하고, 다시 절편을 95% N₂+5% CO₂로 포화시킨 ACSF 2 ml (허혈유

발)에 옮겨 5분간 배양(배양 후 산소분압: 30~40 mmHg)하여 [³H]NE유리를 유발하였다. 이후 조직절편을 0.2 N HCl용액에 옮겨서 45분간 배양하여 조직내 [³H]NE를 추출하였다.

약물은 washing, resting 그리고 stimulating plate에 투입하였다. 방사능의 측정은 각 well에서 500 μ l를 취하여 4 ml vial에 담고, 여기에 3 ml의 counting cocktail을 첨가하여 β -counter로 측정하였다.

허혈자극에 의한 신경전도물질유리는 허혈자극에 의해 유리된 신경전도물질의 양에서 기저유리량을 제하고 이를 총 절편내 신경전도물질량으로 나누어 그 백분율로 표시하였다. 시험한 약물은 각 실험에서 4회 반복측정하고, 각 실험은 최소 3회 실시하였다.

조직내 ATP함량의 측정

조직내 ATP함량의 측정은 Ishida 등(1984)의 방법에 준하여 실시하였다. 즉, 세척, 기저유리측정 그리고 허혈유발의 각 과정이 끝난 후 각각 동량의 절편(약 15 mg)을 취하여 초자분쇄기로 분쇄하여 끓는 물에 10분간 두어 ATP를 추출하고, 즉시 얼음위에서 냉각시켰다. 삼출액내 ATP의 정량은 정제된 luciferin-luciferase시약을 이용하여 Luminometer(M2020, Lumac Biocounter, Schaesberg, Netherland)로 측정하였다.

조직의 생존확인

조직 삼출액내 LDH의 측정: LDH의 측정은 Bergmeyer와 Bernt(1974)의 방법에 따라 실시하였다. 즉, 세척, 기저유리측정 그리고 허혈유발의 각 과정이 끝난 후 300 μ l를 각각 취하여 50 mM phosphate buffer(ph 7.5), 1 mM pyruvate와 0.2 mM NADH를 함유한 0.7 ml의 반응액에 첨가하고, 25°C에서 30분간 반응시켜 340 nm에서 NAD의 흡광도의 변화를 측정하였다.

조직의 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC)염색: 실험 종료 후 2% TTC 용액에서 절편을 30분간 위치하여 발색을 관찰하였다.

결과의 분석

얻어진 실험성적은 ANOVA로 분석하여 대조치와 유의한 차이를 보이는 경우 Dunnett's t-test로 대조치와의 유의한 차이를 검정하였으며, 유의수준은 95%로 하였다.

실험에 사용한 [7,8-³H]noradrenaline은 Amersham(England)에서, dizocilpine(MK-801), ketamine, D(-)-2-amino-5-phosphonopentanoic acid(D-AP5), DNQX, 6-cyano-7-nitro-

quinoxaline-2,3-dione(CNQX), NBQX, ifenprodil, arcaine, DMPO 그리고 L-PDC 등은 Research Biochemical Inc. (Natick, MA, USA)에서, 7-nitroindazole, L-NMA, L-NAME, L-arginine, D-arginine, dibutyryl cGMP, 8-Br-cGMP, methylene blue, zaprinast, luciferin, luciferase 그리고 기타 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis)에서 각각 구입하였다.

실험 결과

시험관내 허혈에 의한 대뇌피질절편내 ATP 함량변동과 [³H]NE 유리

흰쥐 대뇌 피질절편에서 용액내 Mg²⁺을 제외한 상태에서 조직내 ATP함량은 5분간의 저혈당 및 허혈에 의해 각각 대조군의 38%와 8.8%로 감소되어 본 실험에서 적용한 방법에 의해 대뇌 피질절편 조직의 허혈이 유발되었음을 알 수 있었다(Fig. 1). [³H]NE는 저혈당에 의해서는 유리되지 않았으나, 허혈에 의해서는 절편내 총 [³H]NE의 약 15±1.7%에 달하는 높은 유리를 보였다.

시험관내 허혈에 의한 [³H]NE 유리에 대한 glutamate성 신경 작용약물의 영향

허혈에 의한 뇌손상에 있어 acidic amino acid인 gluta-

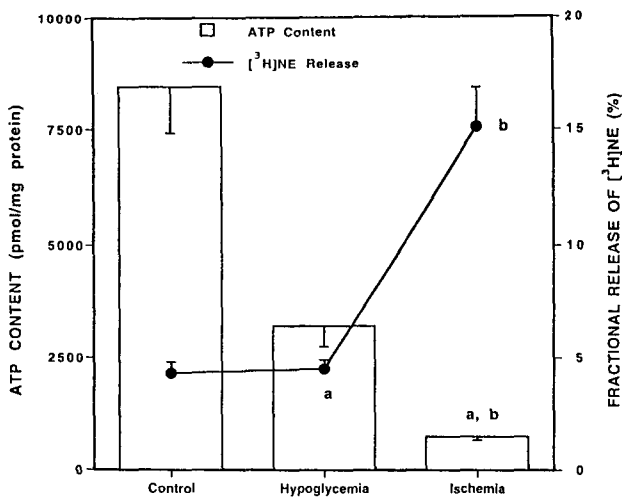


Fig. 1. Changes of ATP content and amount of [³H]NE release in hypoglycemic or isehmic state in cerebral cortex slices. ATP was measured 5 min after the incubation of hypoglycemic or ischemic environment. Each value represents the mean with SEM from 3 independent experiments. a: Significantly different from the control value. b: Significantly different from the value of hypoglycemic state.

mate(Glu)가 주된 역할을 하며, Glu수용체 가운데 NMDA 수용체가 주로 이를 매개함은 잘 알려져있다(Choi & Rothman, 1990). 따라서 본 연구에서는 허혈자극에 의한 신경전도물질의 유리가 Glu에 의한 것인지, 그리고 이 효과를 매개하는 수용체의 형을 알아보기 위하여 NMDA 수용체의 생리적 길항제인 Mg²⁺, 경쟁적 길항제인(D-AP5), 비경쟁적 길항제인 dizocilpine과 ketamine, non-NMDA 수용체 길항제인 DNQX와 CNQX 그리고 NBQX의 영향을 검토하였다.

흰쥐 대뇌 피질절편에서 허혈에 의한 [³H]NE의 유리는 1.2 mM Mg²⁺, 100 μM, D-AP5, 10 μM dizocilpine과 10 μM ketamine 등 경쟁적 또는 비경쟁적 NMDA 수용체 길항제에 의하여 억제되었다. 그러나 NMDA 100 nM에 의한 [³H]NE의 유리에 영향을 주지 않는 농도(3 μM)의 DNQX 또는 CNQX 등 non-NMDA 수용체 길항제, 그리고 AMPA 수용체에 선택성이 높은 NBQX에 의해서는 영향받지 않았다. 또한 spermine 등 polyamine site의 길항제인 ifenprodil(1 μM)과 arcaine(1 μM)에 의해서도 억제되었다. Glycine은 NMDA수용체의 positive allosteric modulator로 작용하여 NMDA의 효과를 강화시킴이 보고되어 있다(Johnson & Ascher, 1987). 따라서 본 실험에서 허혈시 [³H]NE의 유리에 NMDA 수용체가 관여하는 것으로 사

Table 1. Influence of chemicals which modify glutamatergic neurotransmission on ischemia-evoked release of [³H]NE in rat cerebral cortex slices

Treatment	Fractional release induced by Ischemia(%m mean ± S.E.)
Saline	15.2 ± 1.7 (18)
MgCl ₂ , 1.2 mM	4.6 ± 0.3 ^a (3)
D-AP5, 100 μM	8.4 ± 1.1 ^a (3)
Dixocilpine, 10 μM	7.2 ± 0.8 ^a (3)
Ketamine, 10 μM	8.6 ± 1.0 ^a (3)
CNQX, 3 μM	12.8 ± 1.2 (3)
DNQX, 3 μM	13.7 ± 1.5 (3)
NBQX, 10 μM	14.2 ± 1.5 (3)
Ifenprodil, 1 μM	8.2 ± 0.7 (3)
Arcaine, 1 μM	7.1 ± 0.6 (3)
DCQX, 30 μM	11.5 ± 0.9 (3)
Glycine, 10 μM	19.4 ± 1.5 (3)
DCZ + Glycine	14.7 ± 1.1 (3)

Each value represents the mean with s.e.m.. Numerals in parentheses are the number of observations. a: Significantly different from saline-treated control value (p < 0.05). b: Significantly different from the value of DCQX (p < 0.05).

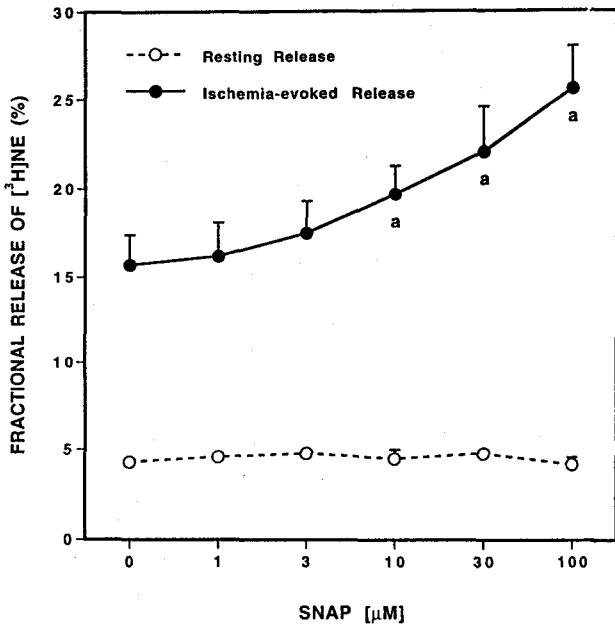


Fig. 2. Influences of SNAP, a NO delivering agent on the ischemia-evoked release of [3H]NE in rat cerebral cortex slices. Each value represents the mean with SEM from 3 independent experiment. a: Significantly different from the value in the absence of SNAP (p<0.05)

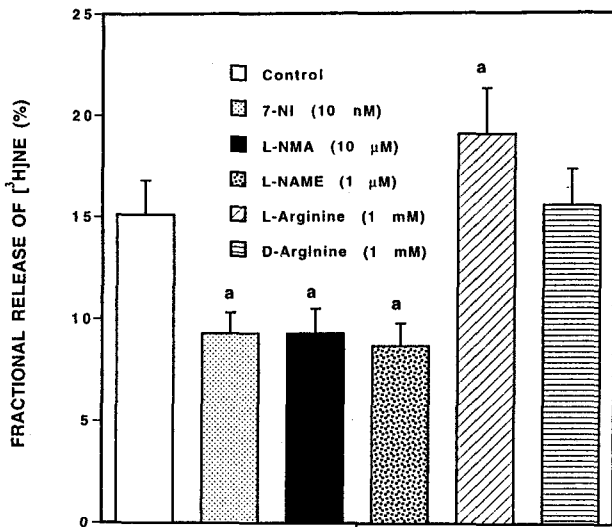


Fig. 4. Influences of NOS inhibitors on the ischemia-evoked release of [3H]NE in rat cerebral cortex slices. Other legends are the same as in Fig. 3.

료되어 허혈에 의한 [3H]NE의 유리에 대한 glycine의 영향과 glycine-sensitive site의 길항제로 보고된 DCQX의 영향을 검토하였다. 허혈에 의한 [3H]NE의 유리는 영양액

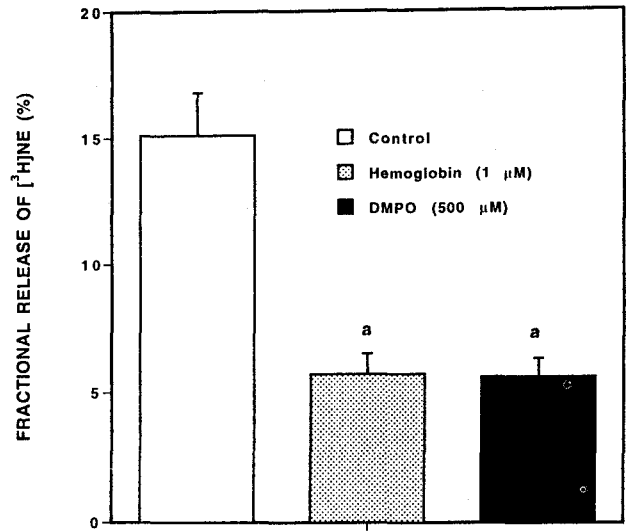


Fig. 3. Influences of hemoglobin and DMPO, NO chelators which do not pass cell membrane, on the ischemia-evoked release of [3H]NE in rat cerebral cortex slices. Each value represents the mean with SEM from 3 independent experiment. a: Significantly different from the control value.

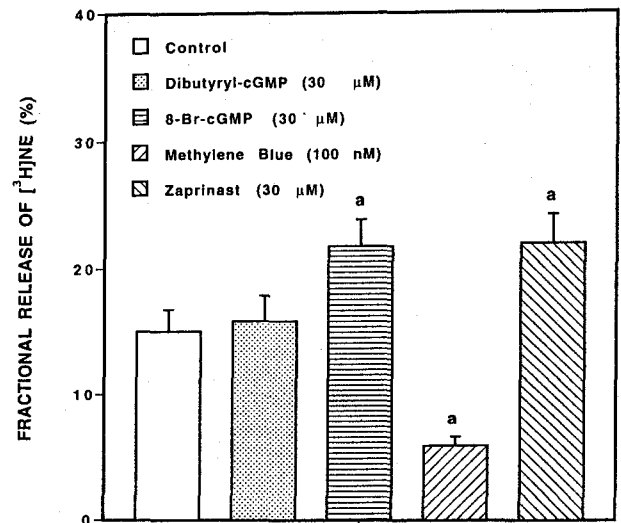


Fig. 5. Influences of chemicals which are capable of modifying intracellular cGMP system on the ischemia-evoked release of [3H]NE in rat cerebral cortex slices. Other legends are the same as in Fig. 3.

내 glycine 10 μM의 존재시 유의하게 증가되었으며, 30 μM DCQX 처리에 의해 유의하게 억제되었다. 한편 glycine에 의한 [3H]NE 유리증대효과는 DCQX전처리에 의해 억제되었다. Table 1은 이상의 성적을 종합한 것이다.

시험관내 허혈에 의한 [³H]NE유리에 대한 nitric oxide (NO)의 영향

본 실험에서 허혈에 의한 [³H]NE의 유리는 NO 합성효소(NO synthase; NOS)억제제인 7-nitroindazole, L-NAME과 L-NMA에 의해 현저히 억제되었고(Fig. 2), NO 유리제인 SNAP에 의해서 허혈의 [³H]NE 유리효과는 용량에 비례하여 강화되었으나, 기저유리는 변동되지 않았다(Fig. 3). 또한 NO chelator인 hemoglobin과 DMPO는 [³H]NE의 유리를 유의하게 감소시켰다(Fig. 4). NO는 세포내 soluble guanylate cyclase를 활성화하여 세포내 cGMP를 증가시켜 그 생체효과를 보이는 바, 본 실험에서 [³H]NE의 유리는 soluble guanylate cyclase억제제인 methylene blue에 의해 억제되었고, cGMP phosphodiesterase 억제제인 zaprinast에 의해 증가되었다. 그리고 cGMP selective protein kinase 활성화제인 8-bromo-cGMP에 의해서 허혈에 의한 [³H]NE의 유리는 증강되었으나, 기저유리는 변동되지 않았다(Fig. 5).

고 찰

본 연구에서 시험관내 허혈은 흰쥐 대뇌피질 절편에서 유의한 [³H]NE의 유리를 유발하였으며, 이러한 허혈의 효과는 Glu 유리억제제, NMDA-또는 non-NMDA수용체 길항제에 의해 억제되었다.

허혈에 의한 [³H]NE의 유리가 NMDA 수용체의 생리적 길항제인 Mg²⁺, 경쟁적 길항제인 D-AP5, 비경쟁적 길항제인 dizocilpine과 ketamine 등에 의하여 억제되고, non-NMDA 수용체 길항제인 CNQX와 DNQX, 그리고 AMPA수용체 억제제인 NBQX에 의해서는 영향받지 않은 성적을 종합하면, 본 실험에서 허혈자극에 의해 glutamate성 신경의 depolarization이 선행되어 이 신경에서 glutamate가 유리되고, 유리된 glutamate는 NE성 신경 세포에 존재하는 NMDA-수용체에 작용하여 [³H]NE의 유리를 일으킴을 시사한다. 또한 허혈에 의한 [³H]NE의 유리가 polyamine site 길항제인 ifenprodil과 arcaine에 의해 억제된 성적은 이 과정에서 polyamine이 개입됨을 의미한다. 그리고 허혈에 의한 [³H]NE의 유리가 glycine에 의해 강화되고, DCQX에 의해서 억제된 점은 허혈에 의한 NE 유리에 있어 NMDA수용체의 glycine-sensitive site가 작동함을 시사하는 것이다.

본 실험에서 허혈에 의한 [³H]NE의 유리는 NOS억제제인 7-nitroindazole, L-NAME과 L-NMA에 의해 현저히 억제되었고, NO 유리제인 SNAP에 의해서 강화되었으며,

hemoglobin과 DMPO에 의해서는 현저히 감소되었다. 또한 methylene blue에 의해 억제되었고, zaprinast에 의해 증가되고 8-bromo-cGMP에 의해서 허혈에 의한 [³H]NE의 유리는 증강되었다.

최근, NOS에 의하여 L-Arg 으로부터 생성되는 NO가 허혈 또는 허혈 후 재관류에 의한 뇌손상과 관련되어있음이 보고되어 있다. 즉 Malinski 등(1993)은 중대뇌동맥 폐쇄 국소성 뇌 허혈 모델 흰쥐에서 뇌내 NO함량이 증가된다 하였으며, Dawson과 Snyder(1994) 그리고 Morikawa 등(1994)은 NOS 억제제에 의해 국소성 허혈에 의한 뇌손상이 감약됨을 보고하였다. NO에 의한 뇌손상 유발기전에 관해서 Beckman(1991)과 Dawson 등(1992)은 허혈시 생성되는 superoxide와 NO가 반응하여 만드는 peroxynitrite가 lipid peroxidation을 일으켜 세포의 손상을 유발한다 하였으나, Lafon-Cajal 등(1993)은 superoxide자체가 뇌 손상을 일으킨다 하여 현재까지 그 기전은 명확하게 밝혀져 있지 않다. 그런데 포유류의 신경계에서 NO가 NE 또는 DA성 신경의 활성화에 영향을 미치며(Lauth et al, 1993; Zhu et al, 1992), 더우기 뇌허혈손상을 유발하는 주된 물질로 알려진 glutamate(Choi & Rothman, 1990)에 의한 NE의 유리를 매개한다한 Montague 등(1994)의 보고는 NO의 뇌손상 유발에 있어 세포외액내 신경전도물질 함량조절과 관계가 있음을 시사하는것이다. 본 실험에서 허혈에 의한 [³H]NE의 유리가 NOS억제제인 7-nitroindazole, L-NAME과 L-NMA에 의해 현저히 억제되었음은 허혈에 의한 [³H]NE의 유리에 있어 NO가 개재됨을 시사하고, NO 유리제인 SNAP에 의해서 허혈의 [³H]NE 유리효과는 용량에 비례하여 강화되었으나, 기저유리는 변동되지 않았음은 이 허혈에 의한 NE유리는 NO단독으로는 이루어지지않고 glutamate수용체의 활성화가 동시에 이루어져야함을 시사한다. 또한 NO chelator인 hemoglobin과 DMPO에 의해 [³H]NE의 유리가 유의하게 감소된 성적은 NO가 세포간 신호전달자로 작용할 수 있음을 시사한다.

뇌조직에서 glutamate 또는 허혈에 의해 NO 농도가 증가됨이 보고되어 있는 바(Garthwaite et al, 1989; Garthwaite, 1990), 이 NO는 그 second messenger로써 cGMP의 합성을 촉진시킴은 잘 알려진 사실이다(Bredt & Snyder, 1992; Moncada et al, 1991). cGMP는 guanylate cyclase에 의한 GTP의 가수분해 산물로써, ion channels의 기능 변동(Ligut et al, 1990), phosphodiesterase의 활성 조절(1982; Marashima et al, 1990), 그리고 cGMP-dependent protein kinase의 활성화(Lincoln & Corbin, 1983)를 일으킨이 알려져 있으며, 고농도 존재시 세포의 파괴가 유발됨이 보고되어있다(Ross et al, 1990). 따라서 glutamate 또는

허혈에 의한 여러 신경의 기능 변동에 있어 cGMP가 관여할 가능성은 매우 높다. 본 실험에서 [³H]NE의 유리가 soluble guanylate cyclase 억제제인 methylene blue에 의해 억제되었고, cGMP phosphodiesterase 억제제인 zaprinast에 의해 증가되었으며, cGMP-selective protein kinase 활성화제인 8-bromo-cGMP에 의해서 허혈에 의한 [³H]NE의 유리가 증강되었음은 대뇌피질에서의 허혈성 NE유리가 NO유리에 따른 cGMP증가와 cGMP-dependent protein kinase활성화에 기인될 수 있음을 시사한다.

감사의 글

이 논문은 1995년도 학술진흥재단의 기초의학 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

- Adachi N, Oishi R, Saeki K. Changes in the metabolism of histamine and monoamines after occlusion of the middle cerebral artery in rats. *J Neurochem* 57: 61–66, 1991
- Beckman JS. The doubled-edged role of nitric oxide in brain function and superoxide-mediated injury. *J Dev Physiol* 15: 53–59, 1991
- Bergmeyer HU, Bernt E. UV assay of lactic dehydrogenase activity with pyruvate and NADH. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. vol. II. 2nd ed. Academic Press, NY 574–579, 1974
- Blomqvist P, Lindvall O, Wieloch T. Lesions of the locus coeruleus system aggravate ischemic damage in the rat brain. *Neurosci Lett* 58: 353–358, 1985
- Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron* 8: 3–11, 1992
- Bredt DS, Hwang PM, Snyder SH. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature* 347: 768–770, 1990
- Busto R, Harik SI, Yoshida S, Scheinberg P, Ginsberg MD. Cerebral norepinephrine depletion enhances recovery after brain ischemia. *Ann Neurol* 18: 329–336, 1985
- Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Ann Neurol* 32: 297–311, 1992
- Dawson TM, Snyder SH. Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain. *J Neurosci* 14: 5147–5159, 1994
- Garthwaite J. Nitric oxide synthesis linked to activation of excitatory neurotransmitter receptors in the brain. In: *Nitric Oxide from L-Arginine*, ed. by S. Moncada and E. A. Higgs, *A Bioregulatory System*, p115–137, Elsevier, Amsterdam, 1990
- Garthwaite J, Garthwaite G, Palmer RMJ, Moncada S. NMDA receptor activation induces nitric oxide synthesis from arginine in rat brain slices. *Eur J Pharmacol* 172: 413–416, 1989
- Globus MYT, Ginsberg MD, Harik SI, Busto R, Dietrich WD. Role of dopamine in ischemic striatal injury. *Neurology* 37: 1712–1719, 1987
- Ishida Y, Takagi K, Urakawa N. Tension maintenance, calcium content and energy production of the taenia of the guinea-pig caecum under hypoxia. *J Physiol (Lond)* 347: 149–159, 1984
- Lafon-Cazal M, Pietri S, Culcasi M, Bockaert J. NMDA-dependent superoxide production and neurotoxicity. *Nature* 364: 535–537, 1993
- Lauth D, Hertting G, Jackisch R. Involvement of nitric oxide synthase in 3, 4-diaminopyridine evoked noradrenaline release in rat hippocampus. *Eur J Pharmacol* 236: 165–166, 1993
- Ligut DB, Corbin JD, Stanton BA. Dual ion-channel regulation by cyclic GMP and cyclic-GMP-dependent protein kinase. *Nature* 344: 336–339, 1990
- Lincoln TM, Corbin JD. Characterization and biological role of the cGMP-dependent protein kinase. *Adv Cyclic Nucleotide Res* 15: 139–192, 1983
- Lindvall O, Auer RN, Siesjö BK. Selective lesions of mesostriatal dopamine neurones ameliorate hypoglycemic damage in the caudate-putamen. *Exp Brain Res* 63: 382–386, 1986
- Malinski T, Bailey F, Zhang ZG, Chopp M. Nitric oxide-measured by a porphyrinic microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 13: 355–358, 1993
- Marashima S, Tanaka S, Hokman S, Manganiello V. Characterization of particulate cyclic nucleotide phosphodiesterase from bovine brain: purification of a distinct cGMP-stimulated isoenzyme. *Biochemistry* 29: 5285–5295, 1990
- Moncada C, Lekieffre D, Arvin B, Meldrum B. Effect of NO synthase inhibition on NMDA and ischaemia induced hippocampal lesions. *Neuroreport* 3: 530–532, 1992
- Montague PR, Gancayco CD, Winn MJ, Marchase RB, Friedlander MJ. Role of NO production in NMDA receptor-mediated neurotransmitter release in cerebral cortex. *Science* 263: 973–977, 1994
- Morikawa E, Huang Z, Rosenblatt S, Yoshida T, Moskowitz MA. Therapeutic potential of L-arginine, a precursor of nitric oxide, in focal ischemia. In: *The Human Brain Circulation* (Bevan RD and Bevan JA, ed, p373–387,

- Human Press, NJ, 1994a
- Ross CA, Bredt D, Snyder SH. Messenger molecules in the cerebellum. *Trends Neurosci* 13: 216–222, 1990
- Weinberger J, Nieves-Rosa J, Cohen G. Nerve terminal damage in cerebral ischemia: protective effect of alpha-methyl-para-tyrosine. *Stroke* 16: 864–870, 1985
- Welch KMA, Chabi E, Buckingham J, Bergrin B, Achar VS, Meyers JS. Catecholamines and 5-hydroxytryptamine levels in ischemic brain. *Stroke* 8: 341–346, 1977
- Zervas N, Hori I, Negora M, Wurtzman R, Lavyne M. Reduction of brain dopamine following experimental cerebral ischemia. *Nature* 247: 283–284, 1974
- Zhu XZ, Luo LG. Effect of nitroprusside(nitric oxide) on endogenous dopamine release from rat striatal slices. *J Neurochem* 59: 932–935, 1992
-