

ÓXIDO NÍTRICO (NO): PRODUÇÃO E SIGNIFICADO FISIOLÓGICO DURANTE AS INFECÇÕES

Gláucia Noemy Rodrigues Vespa, João Santana Silva***

RESUMO

A autora faz uma atualização sobre a produção do NO e o papel desempenhado por este agente farmacológico nos eventos de proteção e nos fenômenos imunopatológicos que se apresentam interconectados durante as infecções parasitárias.

UNITERMOS: L-arginina. Óxido Nítrico, defesa do hospedeiro

ABREVIATURAS UTILIZADAS

IFN- γ	Interferon gama
IL	Interleucina
L-NIO	N-iminoetil-L-ornitina (inibidor da enzima NOS)
L-NMMA	N-metil-L-arginina (inibidor da enzima NOS)
NO	Óxido nítrico

* Prof. Assistente da Disciplina de Imunologia Clínica do Depto. de Imunologia e Patologia do IPTSP - UFG

** Depto. de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia - USP - Ribeirão Preto-SP
- Recebido para publicação em 17/03/94

NO ⁻²	Nitrito
NO ⁻³	Nitrato
NOARG	N-nitro-L-arginina (inibidor da enzima NOS)
NOS	Óxido nítrico sintetase
NOSc	Óxido nítrico sintetase constitutiva
NOSi	Óxido nítrico sintetase induzida
RNI	Reativos intermediários do nitrogênio
ROI	Reativos intermediários do Oxigênio
SNAP	S-nitroso-acetil-penicilamina (doador de NO)
Th	Linfócito T auxiliar
TNF	Fator de necrose tumoral

INTRODUÇÃO

Na defesa do organismo às infecções, o macrófago é de vital importância (ADAMS & HAMILTON, 1987). Entretanto, seu papel na resistência a alguns patógenos, como *Trypanosoma* e a *Leishmania*, é complicado pelo fato desta célula poder tanto matar o parasito quanto suportar seu crescimento, sendo fundamental a ativação desta célula para a aquisição de competência de modo a desempenhar funções complexas, como a atividade microbicida. Apesar da relevância fisiológica e médica da ativação dos mecanismos microbicidas de macrófagos, esta ainda é relativamente pouco conhecida, principalmente quanto aos eventos que ocorrem ao nível bioquímico.

Até 1988, foram realizados trabalhos enfocando de maneira relevante apenas quatro sistemas bioquímicos antimicrobianos: 1) reativos intermediários do oxigênio (ROI), produzidos em consequência do aumento de consumo de oxigênio (explosão respiratória), íons superóxidos (O₂⁻), peróxidos de hidrogênio (H₂O₂), que podem ser convertidos para formar o radical hidroxil (OH⁻), e oxigênio simples (O₂); 2) pH ácido nos fagossomas; 3) diminuição induzida pelo IFN- γ dos receptores de transferrina e do ferro livre; 4) enzimas lisossomais. Todavia, estes sistemas não eram capazes de explicar de forma completa e satisfatória muitas atividades antimicrobianas e antitumorais, especialmente no que diz respeito a macrófagos ativadas.

Surpreendentemente, o óxido nítrico (NO), uma molécula que há uma década era conhecida apenas como poluente ambiental, foi capaz de unir a

neurociência, a fisiologia e a imunologia de forma a alterar os conhecimentos dos cientistas a respeito da comunicação celular e de como estas se defendem. Em oposição a este antigo "background", o NO foi recentemente identificado como um novo sistema antimicrobiano de macrófagos ativados. Nos últimos anos, têm-se demonstrado interesse crescente pelo estudo da produção de intermediários reativos do nitrogênio (RNI). Dentre estes, muitos estudos têm sugerido que muitas das ações dos macrófagos contra certos fungos (GRANGER et al.,1990; CENCI et al.,1993), bactérias (SUMMERSGILL et al.,1992), protozoários extracelulares (MALKIN et al.,1987; JAMES & GLAVEN,1989), protozoários intracelulares (GREEN et al., 1990; LIEW et al., 1990, GAZZINELLI et al.,1992), células transformadas por vírus (DUERKSEN-HUGHES et al.,1992) e células tumorais (AMBER et al.,1988; STUEHR & NATHAN, 1989; LEPOIVRE et al.,1990; ISOBE & NAKASHI-MA,1993) são mediados pelos RNI.

As primeiras investigações sobre o envolvimento dos RNI na atividade antimicrobiana dos macrófagos advieram da convergência de duas linhas de pesquisas independentes - a análise do metabolismo de nitrosaminas na carcinogênese e do estudo da atividade antitumoral dos macrófagos.

Admitia-se que a presença de nitritos identificados na urina de animais de laboratório e de humanos era devido ao seu consumo durante a dieta e as bactérias que compunham a flora intestinal normal. Contudo, em 1981, pesquisadores demonstraram que animais "germ free" excretam mais nitrito do que são ingeridos (GREE, TANNENBAUM, GOLDMAN, 1981; WITTER, GATLEY, BALISH, 1981), indicando que células de mamíferos, ao contrário do que se entendia, eram capazes de sintetizar metabólitos do nitrogênio. STUEHR e MARLETTA (1985) encontraram a primeira evidência direta desta produção de óxidos inorgânicos a partir dos estudos com macrófagos murinos e estimulados *in vitro*. Dois anos após, observou-se que a L-arginina era o único aminoácido requerido por macrófagos ativados para inibir a replicação de células tumorais (HIBBS & TAINTOR, 1987). IYENGAR, STUEHR e MARLETTA (1987), utilizando imunoestimulantes, concluíram que óxidos de nitrogênio derivados de macrófagos eram sintetizados a partir do nitrogênio guanidino da L-arginina e que a citrulina era um produto adicional.

Os nitritos não podem por si só reproduzir a atividade citotóxica de macrófagos (HIBBS, VAVRIN, TAINTOR, 1987; IYENGAR, STUEHR, MARLETTA,1987), exceto em pH ácido, condição na qual o NO é gerado a partir de nitritos (STUEHR & NATHAN,1989). Entretanto, o NO é capaz de mimetizar o padrão de citotoxicidade mediado por macrófagos ativados (MARLETTA et al.,1988; HIBBS et al.,1989) e "scavengers" de NO bloqueiam o efeito citostático (HIBBS et al.,1989).

Biossíntese do NO

A reação bioquímica envolvida na produção do NO (N=O) é catalisada pela enzima óxido nítrico sintetase - NOS (Figura 1). Essa via biossintética, em macrófago e outros tipos celulares, utiliza a L-arginina como substrato, o O₂ e NADPH como co-substrato, requerendo como cofatores flavoproteínas FMN e FAD, tetrahydro-L-biopterina, sendo L-citrulina e o NO coprodutos. O óxido nítrico é um gás altamente reativo que possui vida média de 6 a 30 segundos devido a sua rápida oxidação e conseqüente geração de nitritos (NO⁻²) e nitratos (NO⁻³) (MARLETTA et al.,1988; FÖRSTERMANN et al.,1991; HEVEL, WHITE, MARLETTA,1991; MAYER et al.,1989; STAMLER, LOSCALZO, 1992).

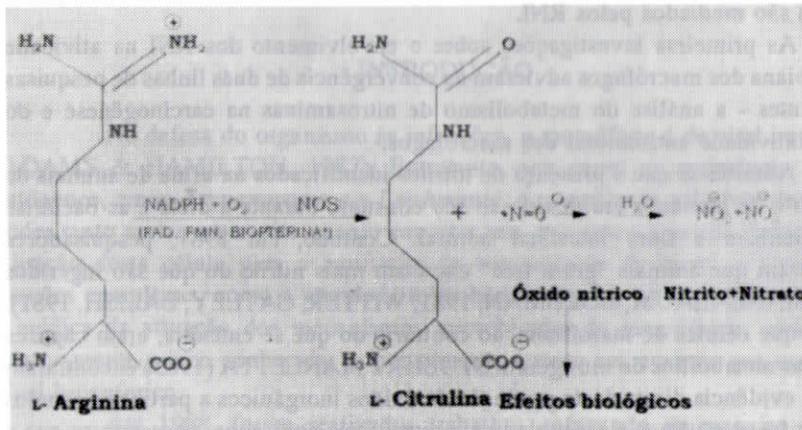


FIGURA 1 - Via biossintética de produção de NO em mamíferos. *cofatores

Tem sido relatado que alguns tipos de NOS necessitam ainda da calmodulina (CaM) como cofator. CHO e colaboradores (1992) demonstraram que, embora a CaM ligue-se à NOS induzida em macrófagos estimulados, a atividade NOS nestas células não é CaM dependente, pois esta atividade não é aumentada por Ca⁺⁺/CaM exógeno ou diminuída por quelantes de cátions divalentes e por drogas que bloqueiam a ligação da CaM em seus alvos.

Vários isoformes de NOS já foram identificados e podem diferir quanto à distribuição nos tecidos, peso molecular e propriedades físicas e funcionais (FÖRSTERMANN et al.,1991). Alguns trabalhos indicam que uma mesma célula

pode apresentar mais de um tipo de NOS (KILBOURN & BELLONI, 1990). Atualmente, propõe-se a existência de pelo menos 3 genes que apresentam "splicing" alternativos para a produção desta enzima (BREDDT et al.,1991; LAMAS et al., 1992; LYONS, ORLOFF, CUNNINGHAM, 1992; LOWENSTEIN et al., 1993). Embora tenham sido sugeridas várias classificações, pode-se basicamente dividir as NOS em óxido nítrico sintetase induzível (NOSi) e óxido nítrico sintetase constitutiva (NOSc).

A NOSi e a NOSc diferem-se quanto à distribuição (Figura 2); sensibilidade aos agentes farmacológicos e fisiológicos de regulação. A expressão da NOSi em macrófagos é induzida após o estímulo imunológico, e necessita de transcrição do DNA (LORSBACH et al., 1993). Uma vez ativados, os macrófagos são capazes de sintetizar e liberar grande quantidade de NO (nmoles) por longos períodos. Este evento tem sido correlacionado à inibição da atividade de várias enzimas, que se daria pela ligação do NO com o ferro, seu alvo molecular, presente no grupamento prostético destas, como por exemplo: a ribonucleotidil redutase (enzima passo limitante da replicação do DNA), aconitase e enzima do complexo 1 e 2 da respiração celular, o que seria importante para se poder explicar muitas das atividades observadas em macrófagos ativados sobre células tumorais e sobre uma série de patógenos (HIBBS et al., 1990). Por outro lado, o NO pode ser produzido constitutivamente por outros tipos celulares e liberados em pequenas quantidades (pmoles), evento este que tem sido relacionado como o responsável pela estimulação da guanilato ciclase em grande número de tecidos, a saber: o endotélio vascular, o cérebro, adrenal e plaquetas (MONCADA, 1992).

FIGURA 2 - Distribuição da NOSc e da NOSi de acordo com tipos celulares.

CARACTERÍSTICA	NOSc	NOSi
TIPOS CELULARES	Célula endotelial ¹ Alguns neurônios centrais ² Alguns neurônios periféricos NANC ³ Neutrófilos ⁴ Mastócitos ⁵ Plaquetas ⁶ Células da medula da adrenal ⁷ Astócitos ⁸ Células epiteliais do rim ⁹ Células da retina ¹⁰ Megacariócitos ¹¹	Macrófagos ¹² Hepatócitos ¹³ Células tumorais ¹⁴ Fibroblastos ¹⁵ Células do músculo liso vascular ¹⁶ Células mesangiais ¹⁷ Células endoteliais ¹⁸ Neutrófilos inflamatórios ¹⁹ Astrócitos ²⁰ Condrócitos articulares ²¹ Células da medula óssea ²² Clone de célula T murino ²³

1. MAYER et al., 1989; PALMER & MONCADA, 1989.
2. BREDT & SYNDER, 1990; KNOWLES et al., 1990a
3. LI & RAND 1989; BULT et al., 1990; HOLMQUIST, HEDLUND, ANDERSON, 1991; GOESSL, KNISPEL, BECKMAN, 1992
4. FAINT, MACKIE, MACHIN, 1991
5. SALVEMINI et al., 1990
6. RADOMSKI PALMER, MONCADA, 1990a
7. PALACIOS et al., 1990
8. MURPHY et al., 1989
9. ISHH et al., 1989
10. VENTURINI et al., 1991
11. LELCHUCK et al., 1992
12. STUR & NATHAN, 1989; STUER & MARLETTA, 1987b
13. CURRAN et al., 1988
14. AMBER et al., 1988; RADOMSKI et al., 1991; WERNER-FELMAYER, WERNERISS. WATCHER, 1992
15. WERNER-FELMAYER et al., 1990
16. BUSSE & MULSCH, 1990; KNOWLES et al., 1990b; REES et al., 1990; BEASLEY, SCHAWARTZ, BRENNER, 1991
17. MARSDEN & BALLERMAN, 1990; PFEILSCHIFTER & SCHWARZENBACH, 1990
18. KILBOURN & BELLONI, 1990; REES et al., 1990; RADOMSKI, PALMER, MONCADA, 1990b
19. McCALL et al., 1991; McCALL, PALMER, MONCADA, 1991
20. CHAO et al., 1992; SIMMONS & MURPHY, 1992
21. STADLEY et al., 1992
22. LELCHUCK et al., 1992; PUNJABI et al., 1992
23. KIRK, REGAN, BARBUL, 1990

Modulação da produção de NO

Existem agentes farmacológicos que podem promover ou antagonizar a produção de NO. Os agentes que mimetizam a liberação de NO pelas células, chamados de doadores de NO, incluem os nitratos, nitroglicerina, nitroprussiato de sódio, sidnoniminas, nitrosotióis como S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP) e complexos de NO com nucleófilos "NONOates" (MARAGOS et al., 1991.) dependendo do mecanismo de ação sobre a atividade NOS dos agentes farmacológicos que inibem a síntese de NO, estes podem ser divididos em seis classes: 1) competidores do substrato da NOS, análogos da L-arginina como o N^w-amino-L-arginina (NOARG), N-iminoetil-L-ornitina (L-NIO), N^w-amino-L-arginina, N^w-metil-L-arginina (L-NMMA), N^w-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME) e ácido 2-amino-4 (guanidinaoxi) butírico (CANAVANINA); 2) ligantes a flavoproteínas como o difenileno iodínico (DPI), iodínico difenil, di-2-tienil iodínico; 3) ligantes ao

grupamento heme como o monóxido de carbono (CO); 4) agentes que depletam a tetrahidrobiopterina (2,4-diamino-6-hidroxi-pirimidina); 5) ligantes à calmodulina, como calcioneurim, trifluoroperazina, N-(4-aminobutil-5-cloro-2-naftalenosulfonamida, N-(6-aminoexil-1-naftaleno-sulfonamida); 6) Inibidores da indução como os corticosteróides e algumas citocinas (revisto em STUERH & GRIFFITH, 1992; NATHAN, 1992).

Os agentes fisiológicos que regulam a síntese de NO podem ser divididos em três classes: 1) agonistas que atuam rapidamente, ativam a síntese de NO em poucos minutos, principalmente através da NOS_c, não sendo, portanto, afetados por inibidores de transcrição e da tradução; 2) indutores que atuam gradualmente - ativam a síntese de NO após algumas horas, sendo afetados por inibidores da transcrição e da tradução; 3) agentes que suprimem a síntese do NO (DING et al., 1990; MONCADA, 1992; NATHAN, 1992).

O grupo de indutores que atuam de forma gradual é principalmente constituído por citocinas. Dentre estas, o IFN- γ , reconhecido como importante ativador de macrófagos, é o que, efetivamente, possui a capacidade de estimular a síntese de NO. Camundongos que apresentam ausência da produção de IFN- γ , pela eliminação do gene desta citocina, desenvolvem-se normalmente e são saudáveis em condições livres de patógenos; todavia, a infecção com doses subletais de *Micobacterium bovis* matam estes animais. O aumento de suscetibilidade ao patógeno intracelular observado pode ser explicado pelo marcado comprometido da produção de NO pelos macrófagos, mesmo após a estimulação *in vivo* (DALTON et al., 1993). Esta supressão de produção pode ser revertida pelo tratamento das células dos animais deficientes, por 48 horas, com IFN- γ .

Adicionalmente, observa-se uma marcada sinergia entre o IFN- γ com outras citocinas que por si só são inativadas (TNF α , TNF β , IL-1, IL-2) e com produtos de microrganismos, como por exemplo lipopolissacáride da parede de bactérias gram-negativas (LPS), exotoxinas (TSST, LTA) e o Ag do *Staphylococcus aureus* (ESPARZA et al., 1987; DRAPIER, WIRTZERBIN, HIBBS, 1998; KILBOURN & BELLONI, 1990; COX et al., 1992; CUNHA et al., 1993a). Macrófagos murinos expressam altos níveis de NOS e produzem grandes quantidades de NO quando estimulados com IFN- γ mais LPS *in vitro*. O pico de expressão de NOS ocorre 12 horas após a estimulação e declina rapidamente, alcançando após 72 horas níveis comparáveis com os controles não estimulados. Os macrófagos podem ser reativados repetidamente a expressarem NOS em níveis e tempo idênticos a primeira ativação (CUNHA et al., 1993b).

Por outro lado, citocinas também podem suprimir a síntese de NO. O pré-tratamento de macrófagos com IL-4 e IL-10, produzidas preferencialmente pela subpopulação Th2, é capaz de inibir a indução de NO mesmo em células estimuladas por IFN- γ mais LPS (LIEW et al., 1991; CUNHA,MONCADA,LIEW, 1992). O fator desativador de macrófagos (MDF) e os três membros da família de fatores de transformação do crescimento: TGF- β 1, TGF- β 2 e TGF- β 3 foram identificados por DING e colaboradores (1990) como bloqueadores parciais da produção de NO pela estimulação com IFN- γ ; este efeito não é observado quando da estimulação concomitante de IFN- γ e LPS. Mais recentemente, foi demonstrado que mesmo após a indução do mRNA para NOS, o TGF β é capaz de reduzir a quantidade de proteína específica, sugerindo que a NOSi pode ser objeto de outros mecanismos reguladores, além da transcrição do DNA (VODOVOTZ et al., 1993). Efeito inibitório sobre a produção de NO também tem sido descrito para citocinas da família de proteínas pró-inflamatórias chamadas de "chemokines", como a IL-8 e o MCP-1-monocytechemotactic protein-1 (McCALL,PALMER,MONCADA,1992; ROJAS et al.,1993).

Produção de NO e a imunidade a patógenos

A indução da síntese de NO por macrófagos ativados é crucial para o desenvolvimento da imunidade contra grande número de microrganismos. O efeito protetor do NO a parasitos intracelulares tem sido evidenciado em vários modelos experimentais como na tripanossomíase e na leishmaniose onde, o mesmo foi demonstrado *in vitro* e *in vivo* (GREEN et al.,1990; LIEW et al.,1990; VESPA,CUNHA & SILVA,1994).

Aumento da produção de NO tem sido verificado após a injeção de LPS em animais em consequência da indução da atividade NOS (OGUCHI et al.,1992). A administração de microrganismos, como *Corynebacterium parvum*, *Listeria monocytogenes* e *Mycobacterium bovis*(BCG), também induz aumento da produção de RNI *in vivo* (STUEHR & MARLETTA,1987a; OGUCHI et al.,1992; BERCKMAN et al.,1993; GREGORY et al.,1993). No entanto, não foi estabelecida uma relação direta entre os níveis de produção de NO e a resistência a estes patógenos, sendo, em alguns casos, como na listeriose experimental, discutido até um possível envolvimento deste reativo no aumento da suscetibilidade.

Nós temos demonstrado que durante a infecção aguda com *T.cruzi*, camundongos resistentes produzem níveis maiores de NO que camundongos suscetíveis e que o tratamento com inibidores da síntese de NO (L-NMMA e NOARG) induz exacerbação da parasitemia e 100% de mortalidade (VESPA et

al.,1984) e que, *in vitro*, a atividade tripanocida de macrófagos ativados com IFN- γ é mediada pelo NO (VESPA,CUNHA & SILVA, 1994). LIEW e colaboradores em 1990 e EVANS e colaboradores em 1993, verificaram que camundongos resistentes (CBA e C3H/HeN) infectados com *Leishmania major*, que receberam injeção L-NMMA no local da lesão ou por via oral também apresentam aumento da suscetibilidade à infecção à *Leishmania*, por outro lado, na listeriose experimental a função protetora do NO tem sido questionada. GREGORY e colaboradores (1993) relataram que a elevada produção de RNI durante a infecção primária parece promover a replicação da *Listeria in vivo*, uma vez que a administração de L-NMMA, a camundongos C57BL/6, induz uma redução do número de *Listeria* no fígado dos animais, e que o NO é incapaz de matar, de forma direta, este microrganismo. Contraditoriamente, o tratamento de camundongos imunodeficientes SCID (extremamente resistente à infecção) e camundongos controles imunocompetentes, com aminoguanidina, inibidor da NOS, resultou num marcado aumento da mortalidade e do número de *Listerias* no baço (BERCKMAN et al.,1993). Estes dados foram concordantes com os observados em experimentos *in vitro*, onde constatou-se que o L-NMMA era capaz de inibir a morte de *Listeria* por macrófagos ativados pelo IFN- γ (BERMUDEZ,1993). Naturalmente, o entendimento do papel do NO na listeriose requer ainda investigações antes que conclusões gerais e definitivas sejam alcançadas.

Todavia, faz-se necessário focar não só os efeitos protetores do NO também discutir a significação fisiológica da exacerbação dos níveis de sua produção *in vivo*, e a possível mediação concomitante de fenômenos patológicos que cursam com a infecção. Tem sido sugerida a participação do NO na imunossupressão generalizada induzida pelo *Trypanosoma brucei* (STERNBERG & MCGUIGAN,1992; SCHLEIFER & MANSFIELD,1993). Nestes trabalhos, foi evidenciado que a supressão da resposta proliferativa induzida por mitógeno, observada na tripanossomíase africana, é mediada por macrófagos, a qual se correlaciona com a liberação de NO, e que pode ser inibida pelo L-NMMA. Ademais, várias publicações têm implicado a síntese de NO com injúria tecidual (KRÖNCKE et al.,1991; LUKIC et al.,1991, MULLIGAN et al.,1991; DAWSON et al.,1991).

CONCLUSÕES

Possivelmente, a produção de NO *in vivo* é modulada pelo aumento da produção de IFN- γ , a qual poderia ser resultante da ativação de linfócitos T e células NK (Natural Killer), causada por IL-2 (CHAN et al.,1991; MANETTI et al.,1993;

HEINZEL et al.,1993) que por sua vez estaria sendo produzida por macrófagos (HSIEH et al., 1993) ativados durante as infecções. O IFN- γ poderia induzir direta ou sinergicamente, como, por exemplo, com TNF, a produção de NO. Este reativo, ao combinar-se com seu alvo molecular, o ferro, presente no grupamento prostético de várias enzimas importantes para a replicação e desempenho das atividades vitais do parasito, o levaria à morte. Por outro lado, o desequilíbrio da produção de NO poderia levar ao desencadeamento de processos deletérios no hospedeiro. Assim, citocinas como TGF- β e IL-10 atuam de maneira antagônica ao IFN- γ , regulando negativamente a produção de NO (DING et al., 1990; LIEW et al.,1991; CUNHA,MONCADA, LIEW,1992). Na infecção experimental com *T.cruzi* tem sido sugerido que o TGF- β e a IL-10, que se encontram elevados durante a fase aguda, apresentam papel regulatório na mediação da suscetibilidade à infecção (SILVA et al., 1992). A IL-10 e o TGF- β coincidentemente inibem a produção e os efeitos do IFN- γ (KILLAR et al.,1987; COFFMAN et al.,1988; BOOM et al.,1988; SILVA,TWARDIZ & REED,1991) e do NO (DING et al.,1990; LIEW et al.,1991; CUNHA,MONCADA,LIEW, 1992).

Assim, a produção adequada de NO envolvida nos eventos de proteção aos patógenos seria reflexo do minucioso balanço de citocinas, sendo importante destacar não apenas as concentrações, mas, também, a cinética de produção das mesmas durante a infecção. Este fato pode ser sustentado pelas observações que demonstram ser a indução da síntese de NO por macrófagos dose dependentes de IFN- γ (ADAMS & HAMILTON,1987; GAZZINELI et al.,1992), e o efeito inibitório do TGF- β e das citocinas tipo Th2 sobre a atividade NOS tempo dependente, pois, para que este possa ocorrer, é de fundamental importância que o tratamento das células, com estas citocinas inibitórias, seja anterior à estimulação (LIEW et al.,1991; CUNHA,MONCADA & LIEW,1992).

SUMMARY

Nitric Oxide (NO): production and physiological signification during the infections

The authoress review the production of NO and role played by this pharmacological agent in the protective and immune pathological phenomena which are interconnected during the parasite infections.

KEYWORDS: L-arginine, NO, NOS. NOS inhibitors, host defence

AGRADECIMENTOS: A Natalia Moriya pela assessoria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ADAMS,D.O. & HAMILTON,T.A. Molecular transductional mechanisms by which IFN- γ and other signals regulates macrophage development. *Immunol. Rev.*,**97**:5-27,1987.
02. AMBER,L.J.; HIBBS,J.B.; TAINTOR,R.R., VAVRIN,Z. The L-arginine dependent effect mechanism is induced in murine adenocarcinoma cells by culture supernatant from cytotoxic activated macrophages. *J.Leukoc.Biol.*, **43**:187-92, 1988.
03. ASSREUY,J.; CUNHA,F.Q.; EPPERLEIN,M.; DUTR,A.N.; O'DONNELL,C.A.; LIEW,F.Y.; MANCADA,S. Production of nitric oxide and superoxide by activated macrophages and killing *Leishmania major*. 1994.in press.
04. BEASLEY,D.; SCHWARTZ,J.H.; BRENNER,B.M. Interleukin 1 induces prolonged L-arginine-dependent cyclic guanidine monophosphate and nitrite production in rat vascular smooth muscle cells. *J.Clin.Invest.*,**87**:602-608, 1991.
05. BERCKMAN,K.P.; ROGERS,H.W.; CORBETT,J.A.; SCHREIBER,R.D.; McDANIEL,M.L.; UNAMUE,E.R. Release of nitric oxide during the cell-independent pathway of macrophage activation. Its role in resistance to *Listeria monocytogenes*. *J.Immunol.*,**150**:888-95, 1993.
06. BERMUDEZ,L.E. Differential mechanisms of intracellular killing of *Mycobacterium avium* and *Listeria monocytogenes* by activated human and murine macrophages. *Clin.Exp.Immunol.*,**91**:277-81, 1993.
07. BOOM,W.H.; LIANO,D.; ABBAS,A.K. Heterogeneity of helper/induced T lymphocytes.II. Effects of interleukin 4 - and interleukin 2 - producing T cell clones on resting B lymphocytes. *J.Exp.Med.*,**167**:1350-63, 1988.

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. *Rev.Pat.Trop.*23(1): 01-23, jan./jun.1994.

08. BREDT,D.S.; HWANG,P.M.; GLATT,C.E.; LOWENSTEIN,C.; REED,R.R.; SNYDER,S.H. Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature*, **351**:714-8,1991.
09. BREDT,D.S. & SNYDER,S.H. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc.Natl.Acad.Soc.USA*,**87**:682-5, 1990.
10. BULT,H.; BOECKXSTAENS,G.E.; PELCKMANS,P.A.; JORDAENS,F.H.; VAN MAERCHE,Y.M.; HERMAN,A.G. Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergical non-colinergic neurotransmitter. *Nature*,**345**: 346-7,1990.
11. BUSSE,R. & MULSCH,A. Induction of nitric oxide synthase by cytokines in vascular smooth muscle cells. *Fed.Eur.Biochem. Soc.Letts*,**256**:133-6,1990.
12. CENCL,E.; ROMANI,L.; MENCACCI,A.; SPACCAPELO,E.; SCHAFFEL,A.E.; PUCETTI,P.; BISTONI,F. Interleukin-4 and interleukin-10 inhibit nitric oxide-dependent macrophage killing of *Candida albicans*. *Eur.J.Immunol.*,**23**:1034-8,1993.
13. CHAN,S.H.; PERUSSIA,B.; GUPTA,J.W.; KOBAYASHI,M.; OSPISIL,M.; YOUNG,H.A.; WOLF,S.; YOUNG,D.; CLARK,S.C.; TRINCHIERI,G. Induction of interferon- γ production by natural killer cell stimulatory factor: characterization of the responder cells and synergy with others induced. *J.Exp.Med.*,**173**:869-79, 1991.
14. CHAO,C.C.; HU,S.; MOLITOR,T.W.; SHASKAN,E.G.; PETERSON,P.K. Activated microglia mediated neural cell injury via nitric oxide mechanism. *J. Immunol.*,**149**:2736-41, 1992.
15. CHO,H.J.; XIE,Q.W.; CALAYCAY,J.; MUMFORD,R.A.; SWIDEREK,K.M.; LEE,T.D.; NATHAN,C. Calmodulin as a tightly bound subunit of calcium, calmodulin-independent nitric oxide synthase. *J.Exp.Med.*,**176**:599-604, 1992.
16. COFFMAN,R.L.; SEYMOUR,B.; LEBMAN,D.; HIRAKI,D.; CHRISTIENSEN,J.; SHADER,B.; CHERWINSKI,H.L. SALVERLKOUL,H.; FILKENMAN,F.; BOND,M.; MOSMANN,T.M. The role of helper T cell products in

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. *Rev.Pat.Trop.*23(1): 01-23, jan./jun.1994.

- mouse B cell differentiation and isotype regulation. *Immunol.Rev.*,**102**:5-28,1988.
17. COX,G.W.; MELILLO,G.; CHATTOPADHYAY,U.; MULLET,D.; FERTEL,R.H.; VARESIO,L. Tumor necrosis factor- α -dependent production of reactive nitrogen intermediates IFN- γ plus IL-2 induced murine macrophage tumoricidal activity. *J.Immunol.*,**149**:3290-6, 1992.
18. CUNHA,F.Q.; MONCADA,S.; LIEW,F.Y. Interleukin-10(IL10) inhibits the induction of nitric oxide synthase by interferon- γ in murine macrophage. *Biochem. Biophys.Res.Comm.*,**12**:1155-9, 1992.
19. CUNHA,F.Q.; MOSS,D.W.; LEAL,L.M.C.C.; MONCADA,S.; LIEW,F.Y. Induction of macrophage parasiticidal activity by *Staphylococcus aureus* and exotoxins through the nitric oxide synthesis pathway. *Immunology*,**78**:563-7, 1993a.
20. CUNHA,F.Q.; ASSREUY,J.; XU,D.; CHARLES,L.; KIEW,F.X.; MONCADA,S. Repeated induction of nitric oxide synthase and leishmanicidal activity in murine macrophage. *Eur.J.Immunol.*, **23**:1380-8, 1993b.
21. CURRAN,R.D.; BILLIAR,T.R.; STUEHR,D.J.; HOFFMANN,K.; SIMMONS,R.L. Hepatocytes produce nitrogen oxides from L-arginine in response to inflammatory products from Kupffer cells. *J.Exp.Med.*,**170**:1769-74, 1989.
22. DALTON,D.K.; PITTS-MEEK,S.; KESHAV,S.; FIGARI,I.S.; BRADLEY,A.; STEWART,T.A. Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon- γ genes. *Science*, **259**:1739-42, 1993.
23. DAWSON,V.L.; DAWSON,T.M.; LONDON,D.E.; BREDT,D.S.; SNYDER,S.H. Nitric oxide mediated inflammatory neurotoxicity in primary cortical cultures. *Proc. Natl.Acad.Sci.USA*,**88**:6368-71, 1991.
24. DING,A.; NATHAN,C.F.; GRAYACAR,J.; DERYNCK,R.; STUEHR,D.J.; SCRIMAL,S. Macrophages deactivating factor and transforming growth factors- β 1, β 2, β 3 inhibit induction of macrophage nitrogen oxide synthesis by IFN- γ . *J.Immunol.*,**145**:940-4, 1990.

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. Rev.Pat.Trop.23(1): 01-23, jan./jun.1994.

25. DRAPIER,J.C.; WIRTZERBIN,J.; HIBBS,J.B.Jr. Interferon- γ and tumor necrosis factor induce the L-arginine-dependent cytotoxic effector mechanism in murine macrophages. **Eur.J.Immunol.**,18:1587-92,1988.
26. DUERKSEN-HUGHES,P.J.; DAY,D.B.; LASTER,S.M.; ZACHARIADES,N.A.; Both tumor necrosis factor and nitric oxide participate in lysis of simian virus 40-transformed cells by activated macrophages. **J.Immunol.**,149:2114-22,1992.
27. ESPARZA,I.; MANNEL,D.; RUPPEL,A.; FALK,W.; KRAMMER,P. IFN- γ and limphotoxin or tumor necrosis factor act synergistically to induce macrophage killing of tumor cells and schistosomula of *Schistosoma mansoni*. **J.Exp.Med.**,166:589-94,1987.
28. EVANS,T.G.; THAL,L.; GRANDER,D.L.; HIBBS,J.B.Jr. Effect of *in vivo* inhibition of nitric oxide production in murine leishmaniasis. **J.Immunol.**,151:907-15,1993.
29. FAINT,R.W.; MACKIE,I.J.; MACHIN,S.J. Platelet aggregation is inhibited by a nitric oxide-like factor released from human neutrophils *in vitro*. **Br.J. Haematol.**,77:539-45, 1991.
30. FÖRSTERMANN,U.; SCHMIDT,H.H.H.; POLLOCK,J.S.; SHENG,H.; MITCHELL,J.A.; WARNER,T.D.; NAKANE,M.; MURAD,F. Isoforms of nitric oxide synthase: characterization and purification from different cell types. **Biochem.Pharmacol.**,42:1849-57, 1991.
31. GAZZINELLI,R.T.; OSWALD,I.P.; HIENY,S.; JAMES,L.; SHER,A. The microbial activity of interferon- γ treated macrophages against *Trypanosoma cruzi* involves an L-arginine-dependent, nitrogen oxide-mediated mechanism inhibitable by interleukin-10 and transforming growth factor- β . **Eur.J.Immunol.**,22:2101-6, 1992.
32. GOESSL,C.; KNISPEL,H.H.; BECKMAN,R. Nitric oxide (NO) mediates relaxation in rabbit and human penile erectile tissue. In: MONCADA,S., MARLETTA,M.A., IBBS,E.A. **Biology of nitric oxide: 1 physiological and clinical aspects**. London: Portland, 1992.p.263-6.

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. Rev.Pat.Trop.23(1): 01-23, jan./jun.1994.

33. GRANGER,D.L.; HIBBS,J.B.Jr.; PERFECT,J.R.; DURACK,D.T. Metabolic fate of L-arginine in relation to microbistatic capability of murine macrophages. **J.Clin.Invest.**,85:264-73, 1990.
34. GREEN,L.C.; TANNENBAUM,S.R.; GOLDMAN,P. Nitrate biosynthesis in germfree and conventional rat. **Science**,212:56-68, 1981.
35. GRENN,S.J.; CRAWFORD,R.M.; HOCKMEYER,J.T.; MELTZER,M.S.; NACY,C.A. *Leishmania major* amastigotes initiate the L-arginine-dependent killing mechanism in IFN- γ stimulated macrophages by induction of tumor necrosis factor- α . **J.Immunol.**,145:4290-7,1990.
36. GREGORY,S.H.; WING,E.J.; HOFFMAN,R.A.; SIMMONS,R.L. Reactive nitrogen intermediates suppress the primary immunologic response to *Listeria*. **Immunol.**,150:2901-9, 1993.
37. HEINZL,F.P.; SCHOENHAUT,D.S.; RERKO,R.M., ROSSER,L.E.; GATELY. Recombinant interleukin 12 cures mice infected with *Leishmania major*. **J.Exp.Med.**,177:1505-9, 1993.
38. HEVEL,J.M.; WHITE,K.A.; MARLETTA,M.A. Purification of inducible murine macrophage nitric oxide synthase: identification as a flavoprotein. **J.Biochem.**,266:2278-91, 1991.
39. HIBBS,J.B.Jr. & TAINTOR,R.R. Macrophage cytotoxicity: Role of L-arginine deaminase and nitrogen oxidation to nitrite. **Science**,235:473-6,1987.
40. HIBBS,J.B.Jr.; VAVRIN,Z.; TAINTOR,R.R. L-arginine is required for expression of the activated macrophage effector mechanism causing selective metabolic inhibition in target cells. **J. Immunol.**,138:550-5, 1987.
41. HIBBS,J.B.Jr.; TAINTOR,R.R.; VAVRIN,Z.; RACHLIN,E.M. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. **Biocgem.Biophys.Res.-Commun.**,157:87-94,1989.
42. HIBBS,J.B.Jr.; TAINTOR,R.R.; VAVRIN,Z.; GRANGER,J.C.; DRAPIER,J.C.; AMBER,I.J. LANCASTER,J.R. Synthesis of nitric oxide, from a terminal

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. Rev.Pat.Trop.23(1): 01-23, jan./jun.1994.

- guanino nitrogen atom of L-arginine: a molecular mechanism regulating cellular proliferation that targets intracellular iron. In:MONCADA,S, & HIGGS Nitric oxide from arginine:a bioregulatory system. Amsterdam,Elsevire,1990.p.189-223.
43. HOLMQUIST,F.; HEDLUND,H.; ANDERSONM.K.E. L-N^w-nitro arginine inhibits nonadrenergical,noncholi-nergical relaxation of human isolated corpus cavernosum. *Acta Physiol.Scand.*,**141**:441-2, 1991.
44. HSIEH,C.S.; MACATONIA,S.E.; TRIPP,C.S.; WOLF,S.F.; O'GARRA,A.; MURPHY,K.M. Development of TH1 CD4 + T cells through Il-12 produced by *Listeria*-induced macrophages. *Science*,**260**:549-59,1993.
45. ISHH,K.; GORSKY,L.D.; FÖRSTERMANN,U.; MURAD,F. Endothelium-derived relaxing factor (EDRF): the endogenous activator of soluble guanylate cyclase in various types of cells. *J.Appl.Cardiol.*,**4**,505-12, 1989.
46. ISOBE,K. & NAKASHIMA,I. Abundant production of nitric oxide from murine macrophages by direct stimulation of tumor cells. *Biochem.Biophys.Res. Commun.*,**192**:499-504, 1993.
47. IYENGAR,R.D.; STUEHR,D.J.; MARLETTA,M.A. Macrophages synthesis of nitrite, nitrate and nitrosamines: precursors and role of the respiratory burst. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*,**84**:6368-73, 1987.
48. JAMES,S.L. & GLAVEN,J. Macrophage cytotoxicity against schistosomula of *Schistosoma mansoni* involves arginine-dependent production of reactive nitrogen intermediates. *J.Immunol.*,**143**:4208-12, 1989.
49. KILBOURN,R. & BELLONI,P. Endothelial cell production of nitrogen oxides in response to interferon- γ in combination with tumor necrosis factor, interleukin-1, or endotoxin. *J.Natl.Cancer. Inst.*,**82**,772-6, 1990.
50. KILLAR,L.; MacDONALD,G.; WEST,J.; WOODS,A.; OTTOMLY,K. Cloned, Ia-restricted T-cells that do not produced interleukin 4 (IL-4) B cells stimulatory factor 1 (BSF-1) to help antigen-specific B cell. *J.Immunol.*, **138**:1674-9, 1987.

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. Rev.Pat.Trop.23(1): 01-23, jan./jun.1994.

51. KIRK,S.J.; REGAN,M.C.; BARBUL,A. Cloned murine T lymphocytes synthesize a molecule with the biological characteristics of nitric oxide. *Biochem.Biophys. Res.Comm.*,**173**:660-5, 1990.
52. KNOWLES,R.G.; PALACIOS,M.; PALMER,R.M.J.; MONCADA,S. Kinetic characteristics of nitric oxide synthase from rat brain. *Biochem.J.*,**269**:207-0, 1990a.
53. KNOWLES,R.G.; MERRETT,M.; SALTER,M.; MONCADA,S. Differential induction of brains, lung and liver nitric oxide synthase by endotoxin in rat. *Biochem. J.*,**270**:833-6, 1990b.
54. KRÖNCKE,K.D.; KOLBBACHOFEN,V.; BERSCHICK,B.; BURKART,V.; KOLLB,H. Activated macrophages kill pancreatic syngeneic islet cells via arginine-dependent nitric oxide generation. *Biochem.Biophys.Res. Commun.*,**175**:752-8, 1991.
55. LAMAS,S.; MARSDEN,P.A.; LI,G.K.; TEMPEST,P.; MICHEL,T. Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterization of distinct constitutive enzyme isoform. *Proc.Natl.Acad.Sci.*,**89**:6348-52, 1992.
56. LELCHUCK,R.; RADOMSKI,M.W.; MARTINS,J.F.; MONCADA,S. Interleukin-1 β stimulates the expression of inducible NO synthase in human megakaryocytes. In:MONCADA,S., MARLETTA,M.A., HIBBS,J.B.Jr., et al. *Biology of nitric oxide*:**2**. London: Portland, 1992.
57. LEPOIVRE,M.; CHENAIS,B.; YAPO,A.; LEMAIRE,G.; THELANDER,L.; TENU,J.P. Alterations of ribonucleotide reductase activity following induction of the nitrite-generating pathway in adenocarcinoma cells. *J.Biol. Chem.*,**265**:14143-9, 1990.
58. LI,C.G. & RAND.M.J. Evidence for a role oxide in neuro-transmitted system mediating relaxation of the rat anococcygeus muscle. *Clin.Exp.Pharmacol. Physiol.*,**16**:933-8, 1989.
59. LIEW,F.Y.; MILLOTT,S.; PARKINSON,C; PALMER,R.M.J.; MONCADA,S. Macrophages killing of *Leishmania* parasite in vivo is mediated by nitric oxide from L-arginine. *J.Immunol.*,**144**:4794-7,1990.

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. Rev.Pat.Trop.23(1): 01-23, jan./jun.1994.

60. LIEW,F.Y.; SEVERN,A.; MILLOTT,S.; SCHIMIDT,J.; SALTER,M.; MONCADA,S. A possible novel pathway regulation by murine T helper type-2 (Th2) cells of Th1 cell via the modulation of the induction of nitric oxide synthase on macrophages. **Eur.J.Immunol.**,**21**:2489-94, 1991.
61. LORSBACH,R.B.; MURPHY,W.J.; LOWENSTEIN,C.J.; SNYDER,S.H.; RUSSELL,S.W. Expression of the nitric oxide synthase gene in mouse macrophages activated for tumor cell killing, molecular basis for the synergy between interferon-gamma and lipopolysaccharide. **J.Biol.Chem.**,**268**:1908-13,1993.
62. LOWENSTEIN,C.J.; GLATT,C.S.; BREDT,D.S.; SNYDER,S.H.; RUSSELL,S.W. Cloned and expressed macrophage nitric oxide contrasts with the brain enzyme. **Proc.Natl.Acad. Sci.USA**,**89**:6711-15,1993.
63. LUKIC,M.L.; STOSIC-GRUJICIC,N.; OSTOJIC,N.; CHAIN,L.; KIEW,F.Y. Inhibition of nitric oxide generation affects the induction of diabetes by streptozocin in mice. **Biochem.Biophys.Res. Commun.**,**178**:913-20,1991.
64. LYONS,C.R.; ORLOFF,G.J.; CUNNINGHAM,J.M. Molecular cloning and functional expression of an inducible nitric oxide synthase from murine macrophage cell line. **J.Biol.Chem.**,**267**: 6370-4,1992.
65. MALKIN,R.; FLESCHER,E.; LENGY,J.; KEISARY,Y. On the interaction between macrophages and the developmental stages of *Schistosoma mansoni* - the cytotoxic mechanism involved in macrophages mediated killing of schistosome "in vitro". **Immunology**,**176**:63-72, 1987.
66. MANETTI,R.; PARRONCHI,P.; GIUDIZI,M.G.; PICCINNI,M.P.; MAGGI,E.; TRINCHIERI,G.; ROMAGNANIS. Natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12 [IL12]) induces T helper type (Th1) specific immune responses and inhibits the development of IL- producing Th cells. **J.Exp.Med.**,**177**:199-204,1993.
67. MARAGOS,C.M.; MORLEY,D.; WINK,D.A.; DUNAMS,T.M.; SAAVEDRA,J.E.; HOFFMAN,A.; BOVE,A.A.; ISAAC,L.; HRABIE,L.K. Complexes of NO with nucleophiles as agents for the controlled release of nitric oxide, sorelaxant effects. **J.Med.Chem.**,**34**:3242-7, 1991.

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. Rev.Pat.Trop.23(1): 01-23, jan./jun.1994.

68. MARLETTA,M.A.; YOON,P.S.; IYENGAR,R.; LEAF,C.D.; SHNOK,J.S. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate. **Biochemistry**,**21**:8706-11, 1988.
69. MARSDEN,P.A. & BALLERMANN,B.J. Tumor necrosis factor activates soluble guanylate cyclase in bovine glomerular mesangial cells via an arginine-dependent mechanism. **J.Exp.Med.**,**172**:1843-52, 1990.
70. MAYER,B.; SCHMIDT,K.; HUMBERT,R.; BOHME,E. Biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: a cytosolic enzyme in porcine aortic endothelial cell Ca^{2+} dependently converts L-arginine into a activator of soluble guanylyl cyclase. **Biochem.Biophys. Res.Commun.**,**164**:678-85, 1989.
71. McCALL,T.B.; PALMER,R.M.J.; MONCADA,S. Induction of nitric oxide synthase in rat peritoneal neutrophils and its inhibition by dexametason. **Eur.J.Immunol.**,**21**:2523-7, 1991.
72. McCALL,T.B.; PALMER,R.M.J.; MONCADA,S. Interleukin-8 inhibits the induction of nitric oxide synthase in rat peritoneal neutrophils. **Biochem.-Biophys.Res. Commun.**,**186**:680-5, 1992.
73. MONCADA,S. The L-arginine: nitric oxide pathway. **Acta Physiol.Scand.**,**145**: 201-27,1992.
74. MULLIGAN,M.S.; HEVEL,J.M.; MARLETTA,M.A.; WARD,P.A. Tissue injury caused by deposition of immune complexes is L-arginine dependent. **Proc.Natl.Acad. Sci.USA**,**88**:6338-42,1991.
75. MURPHY,S.; MINOR,R.L.Jr.; WELK,G.; HARRISON,D.G. Evidence for astrocyte-derived vasorelaxing factor with properties similar to nitric oxide. **Neurochem.**, **55**:349-51,1990.
76. NATHAN,C. Nitric oxide as a secretory product of mamalian cells. **Fed.Am.-Soc.Exp.Biol.J.**,**6**:3051-64,1992.
77. OGUCHI,S.; ILDA,S.; ADACHI,H.; OHSHIMAH.,; ESUMI,H. Induction of Ca^{2+} /calmodulin-dependent NO synthase in various organs of rats by

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. *Rev.Pat.Trop.*23(1): 01-23, jan./jun.1994.

- ropinibacterium acnes* and lipopolysaccharide treatment. *Fed.Eur. Biochem.-Soc.*,308:22-5,1992.
78. PALACIOS,M.; KNOWLES,R.G.; PALMER,R.M.J.; MONCADA,S. Nitric oxide from L-arginine stimulates the soluble guanylate cyclase in adrenal glands. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*,165:802-9,1989.
79. PALMER,R.M.J. & MONCADA,S. A novel citruline-forming enzyme implicated in formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem.Biophys.-Comm.*,158:348-52,1989.
80. PFEILSCHIFTER,J. & SCHWARZENBACH,H. Interleukin 1 and tumor necrosis factor stimulate cGMP formation in rat renal mesangial cells. *Fed.Eur.Biochem.Lett.*,273:185-7,1990.
81. PUNJABI,C.J.; LASKIN,D.L.; HECK,D.E.; LASKIN,J.D. Product of nitric oxide by murine bone marrow cells, inverse correlation with cellular proliferation. *J.Immunol.*,149:2179-84,1992.
82. RADOMSKI,M.W.; PALMER,R.M.J.; MONCADA,S. An L-arginine:nitric oxide pathway present in human plaquets regulates aggregation. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*,87:5193-7,1990a.
83. RADOMISKI,M.W.; PALMER,R.M.J.; MONCADA,S. Glicocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc.Natl. Acad.Sci.USA*,87:10043-7,1990b.
84. RADOMISKI,M.W.; JENKINS,D.C.; HOLMES,L.; MONCADA,S. Man colorectal adenocarcinoma cells: differential nitric oxide synthase determines their ability to aggregate platelets. *Cancer Res.*,51:6073-8,1991.
85. REES,D.D.; CELLEK,S.; PALMER,R.M.J.; MONCADA,S. Dexametasoneprevents the induction by endotoxin of nitric oxide synthase and the associates effects on vascular tone, an insight into endotoxin shock. *Biochem. Biophys.Res.Comm.*,173:541-7,1990.

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. *Rev.Pat.Trop.*23(1): 01-23, jan./jun.1994.

86. ROJAS,A.; DELGADO,R.; GLÓRIA,L.; PALACIOS,M. Monocyte chemotatic protein-1 inhibits the induction of nitric oxide synthase in J774 cells. *Biochem.Biophys.Res. Commun.*,196:274-9,1993.
87. SALVEMINI,D.; MANSINI,E.; ANGGARD,E.; MANNAIONI,P.F.; VANE,J. Synthesis of a nitric oxide-like factor from L-arginine by rat serosal mast cells: stimulation of guanylate cyclase and inhibition of platelet aggregation. *Biochem.Biophys. Res.Comm.*,169:596-601,1990.
88. SCHLEIFER,K.M. & MANSFIELD,J.M. Supressor macrophages in african trypanosomiasis inhibit T cell proliferative response by nitric oxide and prostagladins. *J.Immunol.*,151:492-503,1993.
89. SILVA,J.S.; MORRISSEY,P.J.; GRABSTEIN,K.H.; MOHLER,K.M.; ANDERSON,D.; REED,S.G. Interleukin 10 and IFN- γ regulation of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *J.Exp.Med.*, 175:169-74,1992.
90. SILVA,J.S.; TWARDZIK,D.; REED,S.G. Regulation of *Trypanosoma cruzi* infections *in vivo* by transforming growth factor-beta. *J.Exp.Med.*,174:539-45,1991.
91. SIMMONS,M.L.; MURPHY,S. Induction of nitric oxide synthase in glial cells. *J.Neurochem.*,59:897-905,1992.
92. STADLER,J.; STEFANOVIC-RACIC,M.; BILLIAR,T.R.; EVANS,T.G. Downregulation of nitric oxide biosynthesis by ciclic nucleotides. IN:MONCADA,S.,MARLETTA.M.A., HIBBS,J.B.Jr.,HIGGS,E.A. *Biology of nitric oxide*:2. London: Portand Press,1992.
93. STAMLER,J.S.; SINGEL,D.J.; LOSCALZO,J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-acticated forms. *Science*,258:2898-902,1992.
94. STEENBERG,J. & McGUIGAN,F. Nitric oxide mediates pression of T cell responses in murine *Trypanosoma brucei* infection. *Eur.J.Immunol.*, 22:741-4,1992.
95. STUEHR,D.J. & NATHAN,C.F. Nitric oxide: a macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. *J.Exp. Med.*, 169:1543-5,1989.

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. Rev.Pat.Trop.23(1): 01-23, jan./jun.1994.

96. STUEHR,D.J. & MARLETTA,M.A. Mammalian nitrate oxide synthesis: mouse macrophages produces nitrite and nitrate in response to *Escherichia coli* polysac-charidae. **Proc.Natl.Acad.Sci.USA**,**82**:7738-42,1985.
97. STUEHR,D.J. & MARLETTA,M.A. Induction of nitrite/nitrate synthesis in murine macrophages by BCG infection, lymphokines, or IFN- γ . **J.Immunol.**,**39**:518-25,1987a.
98. STUEHR,D.J. & MARLETTA,M.A. Synthesis of nitrite and nitrate in murine macrophage cell lines. **Cancer.Res.**,**47**:5590-4,1987b.
99. STUEHR,D.J.; GRIFFIT.O.W. Mammalian nitric oxide synthases. **Adv.-Enzymol.Relat.Areas Mol.Biol.**,**65**:287-346,1992.
100. SUMMERSGILL,J.T.; POWELL,L.A.; BUSTER,B.L.; MILLER,R.D.; RAMIREZ,J.A. Killing of *legionella pneumophila* by nitric oxide in gamma-interferon-activated macrophages. **J.Leukoc.Biol.**,**52**:625-9,1992.
101. VENTURINI,C.M.; KNOWLES,R.G.; PALMER,R.M.J.; MONCADA,S.Synthes of nitric oxide in the bovine retina. **Biochem.Biophys.Res.Comm.**,**180**:920-5,1991.
102. VESPA,G.N.R.; CUNHA,F.Q.; SILVA,J.S. Infected mice kill *Trypanosoma cruzi* through a nitric oxide dependent mechanism.1994. **In press**.
103. VODOVOTZ,Y.; BOGDAN,C.; PAIK,J.; XIE,Q-W.; NATHAN,C.F. Mechanism of suppression of macrophage nitric oxide release by transform growth factor beta. **J.Exp.Med.**,**178**:605-13,1993.
104. WERNER-FELMAYER,G.; WERNEREISS,G.; WACHTER,H. Tetrahydrobiopterin-dependent NO-synthase in the human cell line ME-180. In: MONCADA,S., MARLETTA,M.A., HIBBS, J.B., et al. **Biology of itric oxide**:2:1024-30,1992.
105. WERNER-FELMAYER,G.; WERNE,E.R.; FUSCHS,D.; AUSEN,A.; REIBNERGER,G.; WATCHER,H. Tetrahydro-biopterin-depen-dent formation of nitric oxide in murine fibroblasts. **J.Exp.Med.**,**172**:1599-607,1990.

VESPA,G.N.R.; SILVA,J.S. Óxido nítrico (NO): produção e significado fisiológico durante as infecções. Rev.Pat.Trop.23(1): 01-23, jan./jun.1994.

106. WITTER,J.P., GATLEY,S.J., BALISH,E. Evaluation of nitrate synthesis by intestinal microorganisms *in vivo*. **Science**,**213**:449-50,1981.