

Экспериментальная и профилактическая медицина

УДК 611.8546/7 11

Печёночная энцефалопатия: этиология, патогенез и терапевтические возможности**Ж.А.Паронян, Н.В.Кочарян, Г.А.Туршян, Г.В.Априкян***Институт биохимии им. Г.Х.Бунятыана НАН РА
0014, Ереван, ул. П.Севака, 5/1*

Ключевые слова: окись азота, печёночная энцефалопатия (ПЭ), гипераммонемия, глутамин, NOS, синтез мочевины

Раскрытие молекулярно-биологических механизмов развития печёночной энцефалопатии имеет свою предысторию. 100 лет назад Мюррель предложил использовать нитроглицерин в качестве лечебного средства при стенокардии [16]. Затем, в 1980 г., выяснилось, что интактность эндотелий сосудов необходима для индуцирования релаксации сосудов ацетилхолином и допущено существование эндотелиального фактора релаксации (ЭФР) сосудов [17]. В 90-х годах прошлого столетия было показано, что ЭФР является окись азота (NO) [18, 19, 31-33]. До этого было известно, что NO активирует растворимую гуанилат циклазу (ГЦ), повышая количество циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) в препаратах различных тканей [5, 48]. цГМФ активирует цГМФ-зависимую протеинкиназу, а также Ca^{2+} -АТФазу, способствующих дефосфорилированию лёгких цепей миозина, выходу Ca^{2+} из мышечных клеток, расслаблению гладкой мускулатуры и, в конечном итоге, вазодилатации [34, 45]. NO образуется при окислении аргинина [57].

Нобелевский комитет в 1998 г. присудил трём учёным (Furchegg R.F., Murad F. и Ignarro L.G.) Нобелевскую премию за исследование роли NO в регуляции сердечно-сосудистой системы.

В настоящее время опубликованы десятки тысяч статей, посвящённых метаболизму и функции NO, в том числе много обзоров. Однако многие вопросы, связанные с ролью NO в патологических процессах, и, тем более, их терапии, ждут своего выяснения.

NO в норме образуется почти во всех органах и тканях, является мессенджером между нервными клетками и связан с процессами обучения, памяти, сна, боли, выполняет роль внутри- и внеклеточного передатчика и др. Сегодня трудно назвать функцию организма, в регуляции которого NO, простой свободный радикал, не принимал бы участия.

Способность NO давать физиологический эффект в большей степени зависит от малой величины её молекулы, её высокой реактивности и способности к свободной диффузии в различные ткани. При низкой концентрации (10-100 нМ) NO обеспечивает физиологические процессы, а при увеличении до 2-4 мкМ и более проявляется её токсическое действие вследствие образования из неё высокотоксичных соединений и агрессивных радикалов. NO, взаимодействуя с внутриклеточным супероксидным анионом, железом, молекулярным кислородом и др., становится агрессивной, чем объясняется её короткая продолжительность жизни – несколько секунд [2, 3, 47].

Крупный прорыв в выяснении роли NO в метаболизме и функции организма, особенно в ЦНС, произошёл после открытия функциональной взаимосвязи между гипераммонемическим синдромом при печёночных заболеваниях и процессами нейротрансмиссии. Оказалось, что аммонийная интоксикация происходит в результате избыточного активирования глутаматных N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторов [37, 47].

Избыточные количества аммиака и глутамата одинаково активируют глутаматные NMDA рецепторы, приводящие к увеличению Ca^{2+} в постсинаптическом нейроне, Ca^{2+} связывается с кальмодулином и активирует NOS, повышая образование NO, который в свою очередь активирует гуанилатциклазу, что образует цГМФ, часть которого высвобождается во внеклеточную жидкость. Методом микродиализа мозга *in vivo* показано значительное увеличение цГМФ во внеклеточной жидкости при острой аммонийной интоксикации. Антагонист NMDA рецептора МК-801 подавляет повышение цГМФ [37].

Имеются литературные данные о том, что при острых и хронических заболеваниях печени, а также при введении в организм аммиака его концентрация значительно увеличивается в крови, мозге и других органах, что становится причиной активирования NMDA рецепторов, повышения количества NO и токсических продуктов его превращения. Из-за недостаточного обезвреживания аммиака и образования токсических продуктов развивается ПЭ (различные неврологические заболевания) [1, 37, 39].

Хотя хронические заболевания печени (гепатиты, цирроз и др.) и их осложнения (различные проявления энцефалопатии) получили широкое распространение во многих странах, в настоящее время отсутствуют эффективные терапевтические средства. В патологический процесс вовлекаются нарушения различных метаболических процессов, тем не менее главной задачей остается обезвреживание накопившихся токсических количеств аммиака через стимулирование синтеза глутамина и мочевины.

Прежние наши исследования показали, что под действием ингибитора NO-синтетазы (NOS) аминогуанидина в опытах *in vitro* значи-

тельно снижается содержание эндогенного аммиака и параллельно усиливается синтез глутамина [1]. Под действием другого ингибитора NOS-L-нитро-L-аргинин метилэстера (L-NAME) образование свободного аммиака в печени через глутаматдегидрогеназный путь значительно подавляется и стимулируется синтез глутамина [1]. Очевидно, что в этих условиях ГК не подвергается дезаминированию вследствие его вовлечения в синтез глутамина. В условиях *in vivo* в/б введение аммиака в виде NH_4Cl не приводило к существенному изменению в содержании мочевины в мозгу и печени, вероятно, из-за экскреции синтезированной мочевины через почки. В условиях *in vitro* синтез мочевины при добавлении аммиака не стимулировался, однако при добавлении глутамина выраженно стимулировался, что, вероятно, связано с постепенным высвобождением аммиака из глутамина [2, 3]. Поиск путей усиления синтеза мочевины при гипераммонемическом синдроме продолжается.

Материал и методы

Опыты были поставлены на половозрелых белых крысах популяции Вистар массой 130-150 г. Животных быстро декапитировали, извлекали печень и после удаления кровеносных сосудов и остатков крови в холодных условиях готовили 10% гомогенат в калий-фосфатном буфере. Условия *in vitro* экспериментов приведены в предыдущей статье [2]. В качестве добавок к инкубационной среде использовали в конечных концентрациях (мМ) сукцинат, глутаминовую кислоту (ГК) и аспартат (Асп) по 8,0, цитруллин и орнитин по 7,0, аденозин трифосфат (АТФ) – 2,0. Белок определяли по Лоури и сотр. [40], аммиак – микродиффузионным методом [4], мочевины – уреазным методом [56]. Указанные реактивы были приобретены из Sigma Chemical Company, остальные являлись коммерческими.

Результаты и обсуждение

Проведенные нами исследования показали, что при совместном добавлении сукцината и орнитина к инкубационной среде не происходят выраженные сдвиги в синтезе мочевины (табл.1). Отмечается лишь тенденция к снижению свободного аммиака и повышению уровня мочевины. Известно, что при декапитации животных в различных тканях увеличивается содержание аммиака, при котором нарушаются биоэнергетические процессы [46], чем можно объяснить недостаточное окисление сукцината и образование АТФ, который необходим для синтеза мочевины.

В последующих экспериментах, с целью стимулирования синтеза мочевины при гипераммонемии *in vitro*, мы наряду с сукцинатом и

Таблица 1

Влияние сукцината + орнитина на содержание аммиака и образование мочевины (γ N/100 мг белка) в гомогенатах печени белых крыс

До инкубации		После инкубации		
контроль	сукцинат + орнитин	контроль	сукцинат + орнитин	разница в %
А м м и а к				
38,2±1,92 (4)	33,46±3,43 (5) $P_1 > 0,2$	69,55±5,7 (6) $P_1 < 0,001$	54,34±5,6 (5) $P_2 > 0,2$	2/1 = -14,17 3/1 = +82,06 4/3 = -12,79
М о ч е в и н а				
57,98±5,2 (6)	66,7±5,85 (6) $P_1 > 0,2$	69,66±5,13 (6) $P_1 > 0,1$	78,57±3,74 (6) $P_2 > 0,1$	2/1 = +12,79 3/1 = +20/14 4/3 = +12,80

*Здесь и в табл. 2 P_1 – по сравнению с контролем до инкубации,
 P_2 – по сравнению с контролем после инкубации

орнитином к инкубационной среде добавляли аминокислоты (цитруллин, ГК и Асп), непосредственно участвующие в синтезе мочевины. Как и в предыдущей серии (табл.1), при инкубировании гомогенатов печени резко увеличивалось образование аммиака из эндогенных источников. При добавлении к инкубационной среде указанной смеси четко уменьшалось образование аммиака из эндогенных источников по сравнению с инкубированным контролем (табл.2).

В данной серии экспериментов при инкубировании контрольных проб гомогенатов, несмотря на резкое увеличение свободного аммиака, содержание эндогенной мочевины заметно снижалось (табл.2). Это явление наблюдалось и в наших прежних исследованиях, что нуждается в дальнейшем выяснении. При добавлении смеси и последующем

Таблица 2

Влияние смеси сукцинат + орнитин + цитруллин + ГК + Асп на содержание аммиака и образование мочевины (γ N/100 мг белка) в гомогенатах печени белых крыс

До инкубации		После инкубации		
контроль	смесь	контроль	смесь	разница в %
А м м и а к				
24,4±3,38 (6)	21,5±4,34 (6) $P_1 > 0,5$	66,60±5,82 (6) $P_1 < 0,001$	48,65±5,53 (6) $P_2 < 0,005$	2/1 = -11,88 3/1 = +172,9 4/3 = -36,9
М о ч е в и н а				
32,42±5,1 (6)	32,93±5,02 (6) $P_1 > 0,5$	23,37±2,37 (6) $P_1 > 0,05$	37,8±3,39 (6) $P_2 < 0,01$	2/1 = +1,55 3/1 = -27,91 4/3 = +61,75

инкубировании происходит чёткое снижение образовавшегося аммиака из эндогенных источников, по сравнению с инкубированным контролем, и повышение синтеза мочевины на 61,75%. Таким образом, нам удалось в условиях гипераммонемии при использовании указанной смеси стимулировать синтез мочевины (табл.2).

Учитывая нарушение энергетического обмена при гипераммоническом синдроме [46] и необходимость АТФ для синтеза мочевины, мы в наших последующих экспериментах использовали АТФ. Так как исследования, проведенные нами в предыдущей серии, показали, что уровень свободного аммиака и мочевины в присутствии смеси без инкубации не отличается от уровня контроля, мы в следующей серии в качестве контроля без инкубации использовали пробы в её присутствии. Исследования показали, что в присутствии смеси содержание эндогенного аммиака при инкубировании чётко снижается. При добавлении к смеси АТФ содержание свободного аммиака резко повышается, что можно объяснить образованием аммиака из добавленного АТФ (табл.3).

Таблица 3

Влияние АТФ на содержание аммиака и синтез мочевины (γ N/100 мг белка) в присутствии смеси сукцинат+орнитин+цитруллин+ГК+Асп в печени белых крыс

До инкубации	После инкубации			
АТФ + смесь	контроль	смесь	АТФ + смесь	разница в %
А м м и а к				
22,2 $\pm$ 2,53 (10)	67,47 $\pm$ 6,11 (9) *P ₁ <0,005	53,67 $\pm$ 4,11 (10) P ₂ <0,05	102,45 $\pm$ 6,49 (10) P ₃ <0,001	4/3 = - +90,9 4/2 = +51,8 3/2 = -20,45
М о ч е в и н а				
37,23 $\pm$ 2,51 (10)	31,17 $\pm$ 2,36 (6) P ₁ >0,05	43,72 $\pm$ 3,6 (10) P ₂ <0,05	54,39 $\pm$ 4,09 (9) P ₄ <0,05	4/3 = +24,41 4/2 = +74,49 3/2 = +40,26

* P₁ – по сравнению с АТФ + смесь до инкубации,
P₂ и P₄ – по сравнению с контролем после инкубации,
P₃ – по сравнению со смесью

Данные табл.3 показывают также, что при инкубировании содержание эндогенной мочевины несколько снижается. При добавлении к инкубационной среде смеси и в этой серии чётко повышается синтез мочевины (на 40,26%). Примечательно, что при добавлении к смеси АТФ синтез мочевины усиливается дополнительно на 24,41% (P<0,05).

Таким образом, нам удалось показать, что в условиях гипераммонемии в *in vitro* экспериментах при добавлении к инкубационной среде ингредиентов цикла мочевины без АТФ значительно стимули-

руется синтез мочевины (на 40,26%). На этом фоне добавление АТФ приводило к дальнейшему повышению синтеза мочевины ещё на 24,41%. При этом учитывалось образование аммиака из АТФ. При добавлении к смеси АТФ синтез мочевины по сравнению с инкубированным контролем повышался на 74,49% (табл.3).

Мы уже отметили, что у больных с ПЭ концентрация аммиака повышена в крови. Эти результаты получены в клинике у больных и в эксперименте на животных [23, 24, 35, 56, 58, 62, 70]. При ПКА повышается содержание аммиака в крови, тогда как активность глутаминсинтетазы (ГС) в печени снижается, в скелетных мышцах повышается, а в мозгу не подвергается изменению [14, 15, 36]. Эти данные указывают на то, что при значительном повышении аммиака в крови ГС мозга работает на пределе [14], печень не в состоянии обезвреживать аммиак через синтез глутамина, а скелетные мышцы вносят свою долю в обезвреживание аммиака через синтез глутамина [15, 24].

Глутаминсинтетаза, локализованная в перивенозных гепатоцитах [26], синтезирует глутамин из аммиака, неиспользованного для синтеза мочевины в перипортальной зоне [36]. При хронических заболеваниях печени гипераммонемия развивается вследствие потери гепатоцитов: перивенозных, синтезирующих глутамин [26], и перипортальных, синтезирующих мочевины [28]. Глутаминаза – митохондриальный фермент и является перипортальным, где принимает участие в синтезе мочевины из глутамина [38, 39]. Следует иметь в виду, что при гипераммонемии в организме не вырабатывается достаточное количество АТФ для синтеза глутамина и мочевины [42].

Ещё в 1962 г. было показано, что смешивание к диете крыс возрастающих количеств казеина приводит к 5-кратному повышению активности карбамоилфосфатсинтетазы (КФС) в печени [63]. Схожие результаты были получены позже и в отношении ацетилглутамата. Варьирование уровня ацетилглутамата хорошо коррелировало с мочевинообразовательной способностью [64]. Затем выяснилось, что при применении аргинина содержание ацетилглутамата также повышается [65]. При интраперитонеальном введении смеси из 20 аминокислот через 15 мин повышается содержание ацетилглутамата [66].

Детальное исследование влияния различных диет на азотистый обмен в течение длительного времени (42 дней) показало, что усиление синтеза и экскреции мочевины наиболее значимо при высокобелковой диете. Тот же эффект отмечается при добавлении аммиака к стандартной и безбелковой диетам. Показано, что активность КФС-I в митохондриях печени значительно повышается только при высокобелковой диете, а при безбелковой диете, наоборот, резко снижается. Содержание ацетилглутамата почти удваивается под действием аммиака на фоне стандартной диеты. При безбелковой диете его количество и экскреция мочевины резко снижаются, а под действием аммиака на этом фоне содер-

жание ацетилглутамата и экскреция мочевины значительно повышаются [37]. Длительное введение аммиака животным повышает содержание ацетилглутамата без оказания особого влияния на КФС [20].

Результаты приведенных исследований в целом указывают на то, что повышение содержания ацетилглутамата приводит к активированию синтеза мочевины.

При заболеваниях печени повышение содержания аммиака в мозгу [21, 24, 59, 62] происходит и в результате усиления его проницаемости через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ), несмотря на стимулирование скорости метаболизма этого соединения в мозгу [41]. Для обезвреживания аммиака определенную роль играет усиление синтеза глутамина, в частности, под действием ингибиторов NOS [37]. Ингибиторы NMDA рецепторов также могут дать лечебный эффект [30]. Однако основным в борьбе с гипераммонемическим синдромом и предотвращением его токсического действия является стимулирование синтеза мочевины.

В наших прежних исследованиях было показано, что в условиях *in vitro* добавление аммиака к гомогенатам печени, в отличие от глутамина, не стимулирует синтез мочевины [2]. Существует и цитозольная КФС II, которая использует глутамин как донор азота в основном для биосинтеза пиримидинов [67]. Имеются также данные о том, что глутамин является предшественником мочевины в изолированной перфузированной печени [39].

При печеночных заболеваниях накопление избыточного количества аммиака становится причиной образования относительно большого количества NO [37], которая, взаимодействуя с супероксидным радикалом, образует основной цитотоксический фактор — пероксинитрит. Указанная реакция в 3 раза превышает реакцию супероксиддистазы с супероксидом, при которой разлагается супероксид и приостанавливается его разрушительное действие. Пероксинитрит дает начало агрессивным радикалам с их последующими разрушительными действиями путем окисления, нитрирования и нитрозилирования белков и ферментов [27]. В результате нарушается нейромедиаторная функция головного мозга, захват и высвобождение нейромедиаторных аминокислот в нервных окончаниях и глиальных клетках [50, 69], снижается активность постсинаптических ГК рецепторов [42]. Возникают многие неврологические и другие заболевания [6, 11, 27, 44]. Под действием аммиака происходит ингибирование поглощения глутамата астроцитами [7, 55]. При указанных условиях концентрация аммиака, достигая mM, уменьшает количество астроцитарного ГК переносчика, необходимого для инактивации ГК в синапсах. Эти процессы коррелируются со степенью неврологических нарушений и гипераммонемией. Происходит также снижение активности сайтов и плотности глутаматергических рецепторов при портокавальном анастомозе (ПКА) [11].

При экспериментальном нарушении печёночной функции ГК переходит во внеклеточную жидкость [49]. 2 mM аммиака снижает синаптическую передачу в срезах гиппокампа крыс прямым постсинаптическим действием [22], а в норме содержание аммиака составляет всего 0,05-0,1 mM [9]. Изменение долгосрочного потенцирования (LTP) при гипераммонемии нарушает познавательную функцию у крыс и пациентов с ПЭ. Выяснение механизмов этого нарушения поможет разработать терапевтические подходы для улучшения познавательной функции при гипераммонемии и ПЭ. В настоящее время выяснено, что хроническая энцефалопатия *in vivo* нарушает LTP в гиппокампе через изменение активности цГМФ-зависимой протеинкиназы и фосфодиэстеразы-5 (ФДЭ-5) [51, 54]. При ПКА и печёночных заболеваниях в астроцитах аутопсированных срезов мозга снижается активность ГС [25, 43], нарушается нейронастроцитарный перенос веществ, имеющих отношение к регуляции нейромедиаторной функции [10]. При ПКА концентрация глутамата повышается [8], что может быть следствием ингибирования глутаминазы [68]. Все вышеизложенные сдвиги в метаболических процессах приводят к нарушению функциональной деятельности головного мозга [50, 69] и развитию неврологических заболеваний вплоть до болезней Альцгеймера, Паркинсона, бокового амиотрофического склероза и др. [12, 13, 28, 29, 61, 69].

Для лечения заболеваний, связанных с возникновением гипераммонемического синдрома, одним из первых был предложен L-орнитин-L-аспартат (ОА). При применении ОА у крыс с циррозом печени, наряду со снижением аммиака и увеличением мочевины в крови, усиливается синтез мочевины в печени [23]. Интересно, что при применении ОА отмечается 2-3-кратное повышение аргинина в плазме крови [70], что может стать причиной повышения синтеза мочевины. У крыс, через 4 недели после установления ПКА, введение ОА (0,3-1 мг/кг массы) через заранее установленный венозный катетер, за 6 часов до введения тем же путём аммоний ацетата (3,85 mM/кг массы тела) и на стадии комы, определяли содержание аммиака в плазме крови, которое значительно снижалось, а содержание мочевины в нём чётко повышалось (на 95,6%). Применение ОА у больных с заболеваниями печени и при экспериментальной гипераммонемии у нормальных животных и у животных с ПКА приводило к повышению активности ферментов цикла мочевины, ацетилглутамата и усилению синтеза мочевины [23, 35, 58, 60, 62, 70].

Имеющиеся литературные данные относительно возможностей стимулирования синтеза мочевины при добавлении к диете белков [63] и аминокислотного набора из 20 аминокислот [66] неперспективны для клинического применения, поскольку при заболеваниях печени могут оказать побочные эффекты. В этом отношении более перспективным является использование ОА, который дает положительный

эффект в эксперименте у животных и в клинике у больных. Так как при указанных патологиях нарушается энергетический обмен [46], то мы рекомендуем дополнительно использовать субстраты окисления и ингредиенты цикла мочевины для стимулирования синтеза мочевины с целью снижения токсического эффекта гипераммонемии.

Исходя из этого соображения, использованная нами смесь (сукцинат, орнитин, цитруллин, Асп и ГК, табл. 2 и 3) оказалась перспективной для стимулирования синтеза мочевины. Наши исследования показали, что дополнительное включение АТФ в состав смеси усиливает синтез мочевины и может повышать лечебный эффект этой смеси. Подобранные нами соединения могут с успехом использоваться с лечебной целью после их клинического испытания.

Следует иметь в виду также, что предложенные нами соединения являются эндогенными и не могут иметь побочных эффектов при их *per os* и парентеральном введении в организм.

Исследования, проведенные нами и другими авторами, показали также перспективность поиска безвредных ингибиторов NOS, способных активировать ГС.

Указанные средства имеют большую перспективу в борьбе с гипераммонемическим синдромом и его энцефалопатическими осложнениями при различных заболеваниях печени, получивших широкое распространение во многих странах мира.

Поступила 21.07.10

Լյարդայն էնցեֆալոպատիա. էթիոլոգիան, ախտածնությունը և բուժման հնարավորությունները

Ժ.Ա. Պարոնյան, Ն.Վ. Քոչարյան, Գ.Հ. Թուրշյան,
Գ.Վ. Ապրիկյան

Լյարդի հիվանդությունների ժամանակ օրգանիզմում առաջանում է գերամոնիակային համախտանիշ, որը պատճառ է դառնում հիվանդությունների խորացման և էնցեֆալոպատիայի զարգացման: Նշված հիվանդությունների դեմ պայքարի գլխավոր միջոցը ամոնիակի թունավոր քանակների իջեցումն է գլոտամինի և միզանյութի սինթեզի ճանապարհով: Օգտագործելով օբսիդացման սուբստրատներ և միզանյութի ցիկլի մասնակից միացություններ, ինչպես նաեւ ԱԵՖ, մեզ հաջողվել է զգալի կերպով իջեցնել ամոնիակի թունավոր քանակները: Ներկայում տարվում են աշխատանքներ նշված նյութերը փորձարկելու և կլինիկական պրակտիկայում ներդնելու ուղղությամբ:

Hepatic encephalopathy – etiology, pathogenesis and therapeutic possibilities

Zh.A. Paronian, N.V. Kocharian, G.H. Turshian, G.V. Aprikian

Ammonia is a leading key factor in pathogenesis of hepatic encephalopathy in resal of chronic liver disease. In chronic liver failure brain ammonia concentration rises to attain millimolar concentration which is deleterious to brain function. Therapeutic strategies are aimed to reduce blood and brain ammonia concentrations for prevention and treatment of hepatic encephalopathy. We have found that oxydative substances and intermediates of urea cycle as well as ATP are able to decrease toxic amounts of ammonia via stimulation of urea synthesis.

At present our investigations are aimed at testing these intermediates for introduction into clinical practice as potential remedies for treatment of chronic liver failure and hepatic encephalopathy.

Литература

1. Мисакян Г.С., Паронян Ж.А., Туршян Г.А., Априкян Г.В. Мед. наука Армении, НАН РА, 2006, т.XLVI, 2, с.18-22.
2. Паронян Ж.А., Туршян Г.А., Кочарян Н.В., Мисакян Г.С., Априкян Г.В. Мед. наука Армении НАН РА, 2009, т.XLIX, 3, с.66-74.
3. Паронян Ж.А., Мисакян Г.С., Туршян Г.А., Априкян Г.В. ДНАН Армении, 2007, т. 107, 1, с.79-86.
4. Силакова А.И., Труш Г.Р., Являкова А. Проблемы мед. химии, 1962, т.5, с.538-543.
5. Arnold W.P., Mitil C.K., Kaisuki S., Murad F. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1977, 74, p.3203-3207.
6. Bult H., Boeckstaens G.E., Pelckman P.A. et al. Nature, 1990, 345, p.346-347.
7. Bender A.S., Norenberg M.D. Neurochem. Res., 1996, 21, p.567-573.
8. Butterworth R.F., Giguere J.F. Metab. Brain Dis., 1986, 1, p.221-228.
9. Butterworth R.F. In: Progress in Hepatic Encephalopathy and Metabolic Nitrogen Exchange. Boca Raton, CRC Press, Bengtsson G (ed.), 1991, p.9-24.
10. Butterworth R.F. Mol. Neuropharm., 1992, 2, p.229-232.
11. Butterworth R.F. In: Seminars in Liver Disease, Blei A.T. and Butterworth R.E. (eds.). 1996, 16, p. 281-290.
12. Beal M.F., Ferrante R., Browne S. et al. Ann. Neurob., 1997, 42, p.644-654.
13. Bruhwiler J., Chleide E., Liegeois J.F. et al. Neurosci. Behav. Rev., 1993, 17, p.373-385.
14. Chataurel N., Desjardins P., Zwengmann C. et al. J. Hépatol., 2006, 44(6), p.1083-1088.
- 14*. Cooper A.J.L., Mora S.N., Cruz N.F., Gelbard A.S. J. Neurochem., 1985, 44, p.1716-1723.
15. Deschardins P., Rao K.V., Michalak A. et al. Metab. Brain Dis., 1999, 14(4), p.273-280.
16. History of Nitroglycerin. Textbook of Biochemistry. Ed. by Th. M. Devlin, USA. 2006, p.438.
17. Furchgott R.F., Zawadzki I.V. Nature, 1980, 288, p.373-376.
18. Furchgott R.F. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1984, 24, p.175-197.
19. Furchgott R.F. Vasodilatation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium, Vanhoutte (ed.), New York: Raven. 1988. p.401-414.
20. Felipe V., Minana M.D., Grisolia S. European Journal of Biochemistry, 1988, 176, p.567-571.
21. Felipe V., Butterworth R.F. Progress in Neurobiology, 2002, 67, p.259-279.
22. Fan P., Lavoie J., Le N.L.O et al. Neuroscience, 1990, 37, p.327-334.

23. Gebhardt R., Beckers G., Gaurite F. et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1997, 283, p.1-6.
24. Girard G., Butterworth R.F. *Digestive Diseases and Sciences*, 1992, 37(7), p.1121-1126.
25. Girard G., Butterworth R.F. *Metab. Brain Dis.*, 1993, 8, p.207-215.
26. Gerbhardt R., Mecke D. *EMBO J.*, 1983, 2, p.567-570.
27. Huie R.E., Padmaja S. *Free Radic. Res. Commun.*, 1993, 18, p.195-199.
28. Haussinger D. *Eur. J. Biochem.*, 1983, 133, p.269-275.
29. Heales S.J.R., Bolanos J.P., Stewart V.C. et al. *Biochem. Biophys. Acta*, 1999, 1410, p.215-228.
30. Hermenegildo C., Marcaida G., Montoliu C., Grisolia S. *Neurochem. Res.*, 1996, 21, (10), p.1237-1244.
31. Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1987, 84, p.9265-9269.
32. Ignarro L.J., Byms R.E., Woods K.S. In: *Vasodilatation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium*. Ed. Vanhoutte P.P. New York: Raven, 1988, p.427-435.
33. Ignarro L.J. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1990, 30, p.535-560.
34. Ignarro L.G. *Pharmacol. And Toxicol.*, 1990, 67, p.1-7.
35. Kircheis G., Nilius R., Held C. et al. *Hepatology*, 1997, 25, p.1351-1360.
36. Kaiser S., Gerok W., Haussinger D. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1988, 18, p.535-542.
37. Kosenko E., Liansola M., Montoliu C. et al. *Neurochem. Int.*, 2003, 43, p.493-499.
38. Kalra J., Brosnan J.T. *FEBS. Lett.*, 1973, 37, p.325-328.
39. Lund P. and Watford. In: *The urea cycle*. Grisolia S., Baguena R. and Mayor F. eds. John Wiley and Sons, New York, 1976, p.479-490.
40. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, p.265-267.
41. Lockwood A.H., Yap E.M.H., Wong W.H. *J. Cerebral Blood Flow and Metab.*, 1991, 11, p.337-41.
42. Lai J.C.K., Cooper A.J.L. *J. Neurochem.*, 1986, 47, p.1376-1386.
43. Lavoie J., Giguere J.F., Pomler Layrargues G., Butterworth R.F. *Metab. Brain. Dis.*, 1987, 2, p.283-290.
44. Li J., Billiar T.R. *Am. J. Physiol., Gastrointest and Liver Physiol.*, 1999, 276(5), p. G1069-G1073.
45. Moncada S. *J. Hypertens.*, 1994, 12, Suppl., 10, p. S35-S39.
46. Moncada S., Bolanos P. J. *Neurochemistry*, 2005, 97, p.1676-1689.
47. Marcaida G., Felipe V., Hermenegildo C. et al. *FEBS Lett.*, 1992, 296, p.67-68.
48. Murad F., Kimura H. *Life science.*, 1975, 17(6), p.837-843.
49. Michalak A., Rose C., Butterworth J., Butterworth R.F. *Hepatology*, 1996, 24, p.908-913.
50. Michalak A., Knecht K., Butterworth R.F. *Adv. Exp. Med. Bid.*, 1997, 420, p.35-44.
51. Monfort P., Munoz M.D., Kosenko E., Felipe V. *J. Neuroscience*, 2002, 22(23), p.10116-10122.
52. Monfort P., Munoz M.D., Felipe V. *Neurobiology Disease*, 2004, 15, p.1-10.
53. Monfort P., Munoz M.D., Felipe V. *J. Neurochemistry*, 2005, 94, p.934-942.
54. Monfort P., Cauli O., Montoliu C. et al. *Neurochem. Internat.*, 2009, 55, p.106-112.
55. Norenberg M.D., Mozes L.M., Papendick R.E. et al. *Ann. Neurol.*, 1985, 18, p.149.
56. Okuda H., Fujii S., Kawashima Y. *Tokushima J. Experim. Medicine*, 1965, 12(1), p.11-23.
57. Palmer R.M.J., Ashton D.S., Moncada S. *Nature*, 1988, 333, p.664-666.
58. Rose C., Michalak A., Pannunzio P. et al. *Metab. Brain Disease*, 1998, 12, p.24-32.
59. Rose C., Michalak A., Pannunzio P. et al. *Metab. Brain Disease*, 1998, 13, 2, p.147-157.
60. Rose C., Michalak A., Rao K.V.R. et al. *Hepatology*, 1999, 30, p.636-640.
61. Rosen D.R., Siddique T., Patterson D. et al. *Nature*, 1993, 362, p.59-62.
62. Staedt U., Leweling H., Gladisch R. et al. *J. Hepatol.*, 1993, 19, p.424-430.
63. Schimke R.T. *J. Biol. Chem.*, 1962, 237, p.459-468.
64. Shigesada K., Tatibana M. *J. Biol. Chem.*, 1971, 246, p.5588-5595.
65. Shigesada K., Aoyagi K., Tatibana M. *Eur. J. Biochem.*, 1978, 85, p.385-391.
66. Stewart P.M., Walser M. *J. Biol. Chem.*, 1980, 255, p.5270-5280.
67. Tatibana M., Ito K. *J. Biol. Chem.*, 1960, 244, p.5403.
68. Tyce G.M., Ogg J., Dwen C.A. *J. Neurochem.*, 1981, 36, p.640-650.
69. Vaguero J., Butterworth R.F. *J. Neurochem.*, 2006, 98(3), p.661-669.
70. Vogels B.A.P.M., Slotbloom J., de Haan J.G. et al. In: *Advances in hepatic encephalopathy and metabolic nitrogen exchange*, 1995, p.423-431.