

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI  
KRÁLOVÉ**

**KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD**



**ÚLOHA OXIDU DUSNATÉHO V PATOFYZIOLOGII  
VYBRANÝCH PORUCH CENTRÁLNÍHO  
NERVOVÉHO SYSTÉMU**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

Hradec Králové 2009

Iva Bartošková

## **Poděkování**

Při této příležitosti bych ráda poděkovala panu Doc. Mudr. Josefu Herinkovi, Dr.Cs. za cenné rady a připomínky, které mi při sestavování diplomové práce poskytl.

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením pana Doc. MUDr. Josefa Herinka, DrSc. za použití literatury uvedené v závěru práce.

.....

# Obsah

<b>1. Úvod</b> .....	<b>- 9 -</b>
<b>2. NO a NO syntázy (NOS) v CNS</b> .....	<b>- 10 -</b>
2.1 Syntéza NO .....	- 10 -
2.2 Syntázy NO (NOS) - EC 1.14.13.39 .....	- 11 -
2.2.1 Struktura NOS .....	- 12 -
2.2.1.1 Oxygenázová doména (HD, N-terminální hemová doména) ..	- 13 -
2.2.1.2 Reduktázová doména (RD, C-terminálová flavoproteinová doména) .....	- 14 -
2.2.1.3 Kalmodulinová vazebná doména .....	- 14 -
2.2.1.4 Dimerizace NOS .....	- 15 -
2.2.2 Regulace aktivity NOS .....	- 16 -
<b>3. Metabolity NO u poruch CNS</b> .....	<b>- 20 -</b>
3.1 NO a reaktivní metabolity dusíku (RMD) .....	-20 -
3.2 Metabolity NO a radikály .....	- 20 -
3.3 Metabolity NO a oxidace .....	- 21 -
3.4 Radikál oxidu dusičitého (NO <sub>2</sub> <sup>*</sup> ) .....	- 21 -
3.5 Peroxynitrit (ONOO <sup>-</sup> ) .....	- 22 -
3.6 Myeloperoxidáza (MPO), eozinofilní peroxidáza (EPO) .....	- 24 -
3.7 Kyselina dusitá (HNO <sub>2</sub> ) .....	- 25 -
3.8 3-nitrotyrozin (3NTYR) .....	- 25 -
<b>4. Migréna</b> .....	<b>- 27 -</b>
4.1 Klasifikace dle IHS a klinický obraz migrény .....	- 27 -
4.1.1 Migréna bez aury (IHS 1.1) .....	- 28 -
4.1.2 Migréna s aurou (IHS 1.2) .....	- 29 -
4.1.3 Typická aura s migrénou (IHS 1.2.1) .....	- 29 -
4.1.4 Typická aura s nemigrenózní bolestí hlavy (IHS 1.2.2) .....	- 30 -
4.1.5 Typická aura bez bolestí hlavy (IHS 1.2.3) .....	- 30 -
4.1.6 Familiární hemiplegická migréna (IHS 1.2.4) .....	- 30 -
4.1.7 Sporadická hemiplegická migréna (IHS 1.2.5) .....	- 31 -
4.1.8 Migréna bazilárního typu (IHS 1.2.6) .....	- 31 -
4.1.9 Periodické syndromy dětského věku (IHS 1.3) .....	- 31 -

4.1.9.1	Cyklické zvracení (IHS 1.3.1)	- 31 -
4.1.9.2	Abdominální migréna (IHS 1.3.2)	- 32 -
4.1.9.3	Benigní paroxysmální vertigo v dětství (IHS 1.3.3)	- 32 -
4.1.10	Retinální migréna (IHS 1.4)	- 32 -
4.1.11	Chronická migréna (IHS 1.5.1)	- 32 -
4.1.12	Status migrenosus (IHS 1.5.2)	- 33 -
4.1.13	Perzistující aura bez mozkového infarktu (IHS 1.5.3)	- 33 -
4.1.14	Migrenózní infarkt (IHS 1.5.4)	- 33 -
4.1.15	Epileptický záchvat spuštěný migrénou (IHS 1.5.5)	- 33 -
4.1.16	Pravděpodobná migréna (IHS 1.6)	- 34 -
4.1.17	Prodromy	- 34 -
4.1.18	Pozáchvatové období	- 34 -
4.2	Patofyziologie migrény	- 35 -
4.2.1	Poruchy korových oblastí	- 35 -
4.2.1.1	Leaova korová šířící se deprese spontánní elektrické aktivity	- 36 -
4.2.1.2	Poruchy korových oblastí u migrény	- 37 -
4.2.1.3	Změny na počátku poruchy	- 39 -
4.2.1.4	Kmenové migrenózní centrum	- 41 -
4.2.2	Trigeminovaskulární systém	- 41 -
4.2.3	Aktivace trigeminovaskulárního systému	- 45 -
4.2.4	Role NO při atace migrény	- 45 -
4.2.5	Provokační faktory migrény	- 50 -
4.2.5.1	Velká nadmořská výška	- 51 -
4.2.5.2	Spánek	- 51 -
4.2.5.3	Léky	- 52 -
4.2.5.4	Alkoholické nápoje	- 52 -
<b>5.</b>	<b>Další vybrané poruchy CNS s účastí NO</b>	<b>- 53 -</b>
5.1	Cerebrální ischemie	- 53 -
5.2	Alzheimerova choroba	- 53 -
5.3	Parkinsonova choroba	- 54 -
5.4	Roztroušená skleróza	- 54 -
5.5	Schizofrenie	- 54 -

<b>6. Závěry pro zdravotnickou praxi .....</b>	<b>- 56 -</b>
<b>7. Závěr .....</b>	<b>- 58 -</b>
<b>8. Přehled použitých zkratek .....</b>	<b>- 59 -</b>
<b>9. Literární zdroje .....</b>	<b>- 62 -</b>

## Abstrakt

Oxid dusnatý (NO) je jednou z nejvýznamnějších signálních molekul zapojených do četných buněčných dějů. Enzym zodpovědný za tvorbu NO je syntáza oxidu dusnatého (NOS). Byly popsány tři izoformy NOS. Dvě z nich jsou konstitutivní a funkčně závislé na přítomnosti iontů vápníku a calmodulinu (nNOS a eNOS), činnost iNOS je na koncentraci vápníku nezávislá. NO hraje roli při morfogenezi mozku, reguluje synaptickou plasticitu, výbojovou aktivitu neuronů, výdej neurotransmiterů i hormonů. Způsobuje lokální vazodilataci. Může iniciovat neurotoxickou kaskádu, podílí se na řadě neurodegenerativních onemocnění mozku. V některých případech má naopak neuroprotektivní vliv. Je považován za jeden z mediátorů bolesti. NO se podílí na řadě závažných onemocnění jako např. cerebrální ischemii, Alzheimerově chorobě, Parkinsonově chorobě, roztroušené skleróze, schizofrenii a migréně. Migrena je definována jako ataky pulsující bolesti hlavy trvající obvykle 4–72 hodin, většinou doprovázené nauzeou a zvracením. Pacienti s bolestí hlavy představují v ordinacích praktických lékařů a následně i neurologů velmi často řešený problém.

## Abstract

Nitric oxide (NO) is one of the most important signaling molecules involved in different of cellular events. The enzyme responsible for the synthesis of NO is nitric oxide synthase (NOS). Three NOS isoforms was described. Two of them ones are constitutive and functionally depend on the presence of calcium ions and calmodulin (nNOS and eNOS), iNOS activity is independent of the concentration of calcium. NO plays a key role in the brain morphogenesis. It can regulate a synaptic plasticity, firing of neurons, and the modulation of release of other neurotransmitters and hormones. The release of NO causes the local vasodilatation. NO can initiate, under certain conditions, the neurotoxic cascade. It plays, e.g., a role in neurodegenerative diseases, but can play a neuroprotective role as well. NO is one of the pain mediators. NO is participant in many important diseases such as cerebral ischemia, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, multiple sclerosis, schizophrenia and migraine. Migraine is defined as a disorder marked by pulsating headaches which persist usually for 4–72 hours and are mostly accompanied by nausea and vomiting. Patients with headache are very frequent patients of practitioner as well as of the neurologists.



# 1. Úvod

Oxid dusnatý (NO) je svým rozsahem působnosti na biologické pochody lidského organismu výjimečná molekula, v rámci aktivních biomolekul patří mezi nejmenší a nejvšestrannější. Jeho komplexnost působení v organismu je dána množstvím potenciálních interakcí s jinými molekulami a shrneme-li dosud prokázané efekty NO, nebudeme daleko od pravdy prohlášením, že NO působí téměř na všechny metabolické procesy. Tomu také odpovídá enormní a neutuchající zájem vědecké veřejnosti, stále narůstající klinické i experimentální studie neustále prohlubují současné znalosti o NO.

Tato práce si klade za hlavní cíl zhodnotit prokázanou účast NO v patofyziologických procesech CNS. Téma bylo na víceméně obecné úrovni zpracováno již v předcházející BP, na které je zde navázáno se soustředěním pozornosti na jednu z těchto poruch ve snaze hlubšího ponoru do její problematiky a souhrnného doložení všech u ní dosud prokázaných aspektů účasti NO. S ohledem na vysokou četnost výskytu v populaci a závažnost dopadů na celkový život pacientů byla vybrána a hlavní pozornost věnována migréně. Pokusit se obdobně přistupovat k problematice ostatních poruch CNS s účastí NO nelze, zastoupení NO je rozsáhlé a byl by tak překročen obvyklý rámec diplomové práce. Proto jsou vybrány jen hlavní poruchy a účast NO v nich popsána souhrnně v samostatné kapitole zkrácenou informativní formou.

Samostatné kapitoly jsou pro doplnění celkového pohledu na problematiku NO rovněž věnovány zejména klíčovému enzymu v syntéze NO (syntáza NO, NOS), metabolitům NO účastnících se na poruchách CNS a dále pak případným závěrům pro zdravotní praxi.

## 2. NO a NO syntázy (NOS) v CNS

Z dosavadních poznatků plyne, že aktivity NOS v mozku jsou v rámci celého organismu nejvyšší. Tento enzym je zde široce rozšířen a v tomto ohledu se dá srovnat s glutamátem a s GABA (kyselina gamma – aminobutyrová) (29).

Jeho schopnost rychle a volně difundovat přes membrány mu umožňuje i při krátkodobém uvolnění během 100 ms účinkovat až do vzdálenosti kolem 100-200  $\mu\text{m}$  v cytozolu i intracelulárně. Za tento čas je uvolněný NO schopen působit asi na dva milióny synapsí. Z toho vyplývá, že vliv NO je opravdu značný a od toho se v CNS odvíjí mnoho fyziologických účinků (30).

NOS ovlivňuje zejména různé skupiny neuronů, kde působí v součinnosti s různými mediátory v interneuronech obsahujících neuropeptidy (kůra, striatum), aminergních neuronech (nucleus dorsalis raphe), cholinergních projekčních neuronech (septum, mesopontinní tegmentum, pregangliové vegetativní neurony), GABAergních interneuronech (kůra), neurosekrečních neuronech hypotalamu (nucleus supraopticus a paraventricularis) a glutamátových neuronech (granulární buňky mozečku, 39, 45).

NO nachází v CNS široké pole působnosti a to jak za fyziologických podmínek, tak i v některých patologických situacích. Hraje např. roli při morfogenezi mozku, reguluje synaptickou plasticitu, výbojovou aktivitu neuronů, výdej neurotransmiterů i hormonů. Způsobuje lokální vazodilataci. Může iniciovat neurotoxickou kaskádu, může se podílet na řadě neurodegenerativních onemocnění mozku. V jiných případech má naopak neuroprotektivní vliv. Je považován za jeden z mediátorů bolesti a spolupodílí se na vzniku drogové závislosti. Tělo proto musí udržovat ideální hodnoty NOS a tedy tím i NO, jinak by byla porušena integrita a homeostáza organismu (38,39, 45,53).

### 2.1 Syntéza NO

Syntéza NO byla podrobným způsobem zpracována v mé BP, zde budou shrnuta jen základní fakta. NO má v lidském organismu krátkou životnost a proto si ho dle lokálních potřeb syntetizuje sám.

Syntéza probíhá v dvoufázové reakci, při které je zapotřebí L-arginin (substrát), nikotinamidadeninukleotidfosfát (NADPH), molekulární kyslík ( $\text{O}_2$ )

a katalyzátorem celé reakce je NOS. Výsledným produktem syntézy je pak krom NO i L-citrulin, který může být v močovinovém cyklu zpětně recyklován na výchozí substrát L-arginin (13).

Zejména ve vztahu k patologickým procesům je třeba se zmínit, že NOS je také schopna redukovat  $O_2$  prostřednictvím NADPH i za nepřítomnosti hlavního substrátu L-argininu. Výsledkem jejího katalytického působení je pak místo NO superoxid nebo peroxid vodíku (50).

## 2.2 Syntázy NO (NOS) - EC 1.14.13.39

NOS zaujímá klíčovou roli v syntéze NO, je to komplexní enzym, spojující v sobě funkce hemoproteinů a flavoproteinů, působení NOS je velmi komplikované a složitě řízené (20).

U savců se NOS vyskytuje ve třech základních izoformách, které jsou produkty odlišných genů a byly označeny podle tkání, v nichž byl daný podtyp poprvé identifikován. Z tohoto důvodu rozeznáváme neuronální NOS (nNOS, typ I), inducibilní NOS (iNOS, typ II) a endoteliální NOS (eNOS, typ III). Gen pro iNOS je lokalizován na 17. chromozomu, tvorba eNOS a nNOS je řízena dvěma geny umístěnými na 7. a 10. chromozomu (45).

Syntázy eNOS, nNOS i iNOS mají navzájem odlišnou lokalizaci, regulaci, katalytické vlastnosti a inhibiční senzitivitu. Mezi lidskými izoformami NOS je 51-57% homologie (20). Nitrobuněčná lokalizace izoform NOS je určující pro dostupnost mimobuněčných podnětů a účinnost produkce NO. Syntázy nNOS a iNOS jsou lokalizovány v cytozolu, eNOS je membránový enzym (75).

NOS dělíme na konstitutivní a inducibilní. Isoformy eNOS a nNOS jsou exprimovány konstitutivně (tj. stále přítomné, cNOS) na rozdíl od iNOS, která se objeví až po stimulaci různými faktory. Rozlišování NOS na konstitutivní a inducibilní již není zcela přesné, neboť trauma nebo jiné patofyziologické příčiny mohou vyvolat i tvorbu nNOS a eNOS v původně NOS-negativních buňkách. Faktem zůstává, že regulace iNOS se objevuje na úrovni genové transkripce, zatímco nNOS a eNOS je řízena hladinou nezbytných kofaktorů a substrátů v buňce, stejně tak jako modifikací enzymů pomocí fosforylace (45).

Jednotlivé izoformy NOS se vzájemně odlišují v rychlosti přenosu elektronů. Výsledná koncentrace NO za přítomnosti cNOS je za fyziologických podmínek

malá (řádově pikomoly až nanomoly), naopak koncentrace NO produkovaná iNOS je mnohem větší rychlostí (řádově mikromoly, 13).

### 2.2.1 Struktura NOS

Mezi jednotlivými izoformami NOS je významná podobnost sekvencí. Aktivní ve vztahu k produkci NO jsou pouze homodimerní formy NOS. Každý monomer se skládá ze dvou katalyticky aktivních a rozdílných domén a to z oxygenázové - hemové domény (HD), neboli N-terminálové a z C-terminálové reduktázové domény (RD). Tato doména je někdy v literatuře také uváděna pod názvem flavoproteinová.

HD zahrnuje vazebná místa pro protoporfyrin IX (hem), strukturální a redoxní kofaktor tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) a L-arginin (substrát) a tvoří aktivní místo, kde dochází k syntéze NO.

RD doména obsahuje vazebná místa pro flavinadenindinukleotid (FAD) a flavinmononukleotid (FMN) a kosubstrát NADPH.

Mezi HD a RD se nachází sekvence pro vápník vázající kalmodulin (CaM). Oblast je nazývána kalmodulinovou oblastí nebo jako kalmodulinová vazebná doména (8, 15).

Obrovské nasazení mnoha vědeckých týmů umožnilo popis struktury HD domény u všech izoform a FAD/NADPH fragmentu RD u nNOS. Všechny NOS izoformy se v souhrnné sekvenci shodují z 50-60%. U všech izoform NOS byl rovněž zjištěn centrálně vázaný atom zinku (8, 15).

Intraproteinový přenos elektronů v NOS byl charakterizován pomocí navržených chimérických konstruktorů proteinů, jejichž základ tvořila cytochrom P450 oxidoreduktáza (CYPOR) s připojenými C-terminálovými částmi jednotlivých izoform NOS (15).

CYPOR byla v savčích systémech izolována jako první z rodiny diflavinových reduktáz a je to nejlépe charakterizovaná reduktáza. Pak následovaly syntázy NOS, reduktáza methionin-syntázy a nová lidská reduktáza 1 (NR1). Tyto enzymy obsahují obě prostetické skupiny, FAD i FMN. CYPOR pravděpodobně vznikla fúzí dvou genů. CYPOR katalyzuje přenos elektronů z NADPH na mikrozomální cytochrom P450, cytochrom b<sub>5</sub>, hemoxygenázu a elongázu mastných kyselin (15).

CYPOR a C-terminál (641 aminokyselinových zbytků) nNOS jsou z 38% identické a z 58% homologické. Tyto vlastnosti řadí reduktázové domény NOS do třídy flavinoprotein-dehydrogenáz, které obsahují obě FMN a FAD strukturní domény v jednom polypeptidovém řetězci (8).

#### 2.2.1.1 Oxygenázová doména (HD, N-terminální hemová doména)

Struktura HD u jednotlivých NOS vykazuje zdánlivě minoritní rozdíly, kromě počátečních N-terminálních sekvencí (8).

HD je funkčně podobná cytochromu P450, ale strukturální shoda mezi cytochromem P450 a HD syntáz NOS nebyla potvrzena (8).

Společným znakem pro všechny NOS je, že středová struktura HD je tvořena jedním souvislým ohybem několika  $\beta$ -skladanými listy. Středová struktura  $\beta$ -skladaných listů odlišuje NOS od cytochromu P-450, jehož ohyb je tvořen hlavně helikálními prvky (8).

Uvnitř středových HD se u NOS nachází osm cysteinů. U každé NOS byl mutagenézí a analýzou sekvencí přesně identifikován cystein vázající hem. Krystalická struktura ukazuje, že cystein na HD se může zapojit do tvorby disulfidického můstku, který se spojuje se sousední podjednotkou dimeru. Ačkoliv přesný funkční důsledek není znám, tak vytvoření disulfidického můstku může např. reverzibilně modifikovat funkci iNOS v odpovědi na oxidativní stres (2).

Oxygenázové bodové mutace ovlivňují navázání L-argininu i  $\text{BH}_4$  a v některých případech také inhibují dimerizaci. Na iNOS dimeru se nachází dvě identická vazebná místa pro  $\text{BH}_4$ . Nejvyšší biochemické aktivity se dosáhne, pokud jsou obě vazebná místa obsazena (3). Krystalická struktura NOS oxygenázy ukazuje, že L-arginin a jeho blízké sloučeniny jsou lokalizovány v blízkosti železa hemu a proto ovlivňují jeho elektrické vlastnosti, reaktivitu a vazbu jeho ligandů jako jsou oxid uhelnatý (CO) a NO. Naproti tomu  $\text{BH}_4$  je umístěn natolik vzdáleně jak od hemu, tak od samotného substrátu, aby se mohl adekvátně účastnit oxygenačních reakcí. Z toho vyplývá, že  $\text{BH}_4$  možná moduluje reaktivitu oxyhemu (8). Syntézu NO mohou podpořit pouze plně redukované  $\text{BH}_4$  (2).

### 2.2.1.2 Reduktázová doména (RD, C-terminálová flavoproteinová doména)

Zatímco hemové části jednotlivých izoform NOS se strukturálně navzájem odlišují minimálně, jsou známy rozdíly mezi jednotlivými NOS na úrovni reduktázové části. Sekvence NOS RD domény jsou minimálně z 50% homologní s ostatními reduktázami zahrnujícími FMN a FAD jako je CYPOR (8). Ve srovnání s CYPOR však mají všechny izoformy NOS v C-terminálních částech proteinů navíc 21-42 aminokyselinových zbytků. Tuto koncovou část CYPOR neobsahuje (20). Bylo prokázáno, že RD hrají důležitou diferenciativní a funkční roli v každé z izoform NOS (15).

Přenos elektronů se uskutečňuje z NADPH přes FAD, FMN k hemu HD, kde probíhá reakce s tvorbou NO. V RD u nNOS a eNOS se nachází 45 aminokyselinová sekvence, která se nevyskytuje v iNOS a v CYPOR. Tento segment je označen jako autoregulační smyčka sloužící ke kontrole toku elektronů (15).

Jednotlivé izoformy NOS se liší v rychlosti přenosu elektronů. Reduktázová část určujícím způsobem kontroluje přenos elektronů směrem k hemové části a tudíž i rychlost tvorby NO (8).

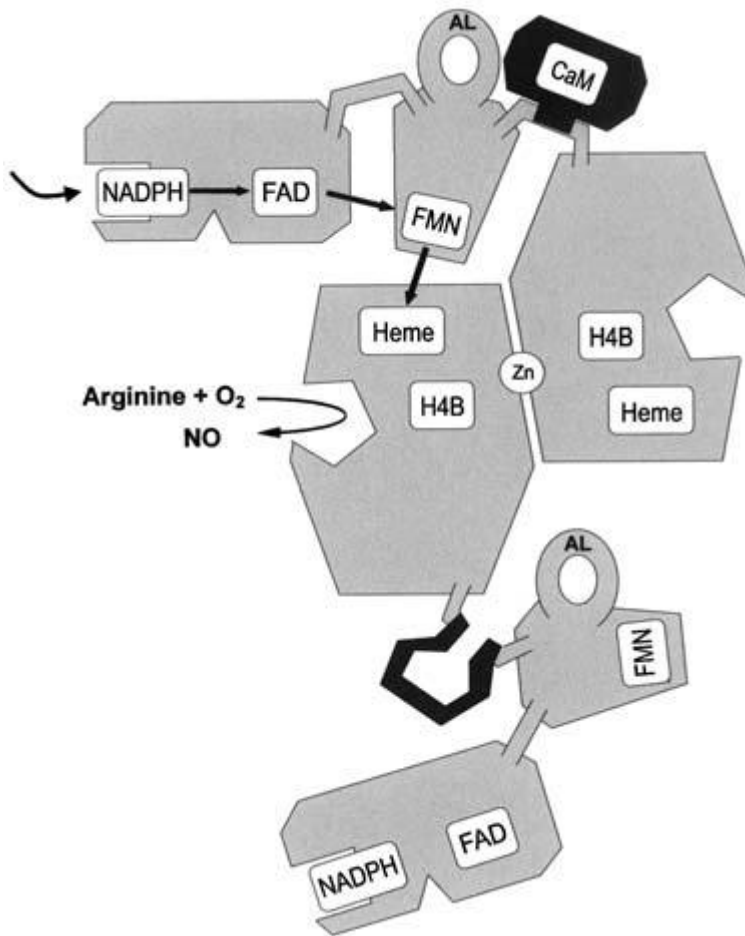
### 2.2.1.3 Kalmodulinová vazebná doména

Vápenatý kationt ( $Ca^{+2}$ ) vázající CaM hraje důležitou roli v aktivaci NOS, protože jeho navázáním se spouští elektronový přenos na hem. Zatímco konstitutivní izoformy, tj. eNOS a nNOS, jsou  $Ca^{2+}$ /kalmodulin dependní, aktivita iNOS není regulována koncentrací  $Ca^{2+}$  iontů a CaM je u ní vázán ireverzibilně (20).

CaM je pevně vázán na iNOS, naopak vazba k eNOS je slabší a ještě slabší k nNOS. Navázáním CaM k cNOS se mění konformace reduktázové domény, zvyšuje se rychlost přenosu elektronů na flaviny a roste tempo přenosu elektronů z reduktázové domény na akceptory jako je např. cytochrom C. (2).

Odlišnou intenzitou vazby CaM k jednotlivým izoformám NOS a nutnost přítomnosti intracelulárního  $Ca^{2+}$  k aktivaci eNOS a nNOS na rozdíl od iNOS je vysvětlována odlišností jednotlivých izoform NOS v rychlosti produkce NO.

Zatímco eNOS a nNOS jsou schopny produkovat NO pouze několik minut, na přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$  nezávislá iNOS může produkovat NO i několik dní, pokud ovšem má k dispozici potřebné substráty (8).



Obr. 1: Schematické znázornění struktury NOS v dimerním uspořádání

Převzato z Daff, S. (8)

Jedna polovina je v aktivním stavu s vázaným CaM, druhá polovina je bez CaM a inaktivní. Šipky ukazují v aktivní polovině směr toku elektronů pomocí NADPH, FAD, FMN a hemu. Kofaktorem celého systému jsou dvě molekuly BH4. Jeden atom Zn je vázán centrálně na rozhraní. Navázání kalmodulinu na sekvence specifických řetězců proteinů iniciuje přeskupení struktury reduktázové domény (RD) a aktivaci elektronového toku. Tok elektronů reguluje autoinhibiční smyčka (AL).

#### 2.2.1.4 Dimerizace NOS

Aktivní NOS tvoří homodimery. Dimerizace NOS je umožněna inkorporací hemu a L-argininu a dochází k ní dvoustupňovým procesem. Funkční

reduktázová doména se formuje jako první, následuje inkorporace hemu a dimerizace monomerů. U cNOS v tomto procesu není nutná přítomnost BH<sub>4</sub>, ačkoli BH<sub>4</sub> stabilizuje vytvořený dimer nNOS. Přítomnost BH<sub>4</sub> u iNOS pro dimerizaci však nutná je (2).

## 2.2.2 Regulace aktivity NOS

Bylo prokázáno mnoho extra i intracelulárních faktorů ovlivňujících aktivitu NOS. Faktory jsou závislé nejen na typu izoformy NOS, ale i na typu buněk v kterých jsou jednotlivé izoformy přítomny. Obecně se dá říci, že hlavním aktivačním a modulačním faktorem cNOS je jejich závislost na přítomnosti Ca<sup>2+</sup> uvolněného ať již z intra nebo extracelulárních zdrojů a ser/tyr fosforylace (13).

Přítomnost cytozolového Ca<sup>2+</sup> je nutná k vytvoření komplexu Ca<sup>2+</sup>/CaM a jeho vazby na cNOS. Pokud koncentrace Ca<sup>2+</sup> v cytozolu klesá, disociuje se od CaM a ten disociuje od cNOS. Na stimulaci eNOS i nNOS aktivity má dále vliv HSP 90 (heat shock protein) tím, že na enzymy cNOS urychluje vazbu komplexu Ca<sup>2+</sup>/CaM. Inhibičně působí Cav-1 (Caveolin-1), ten naopak komplex Ca<sup>2+</sup>/CaM od enzymu vytěsňuje (42).

V CNS je nNOS řízena převážně influxem Ca<sup>2+</sup> přes receptor-depedentní kanály a to zejména postsynaptickou stimulací NMDAr (N-methyl-D-asparát receptor) (74).

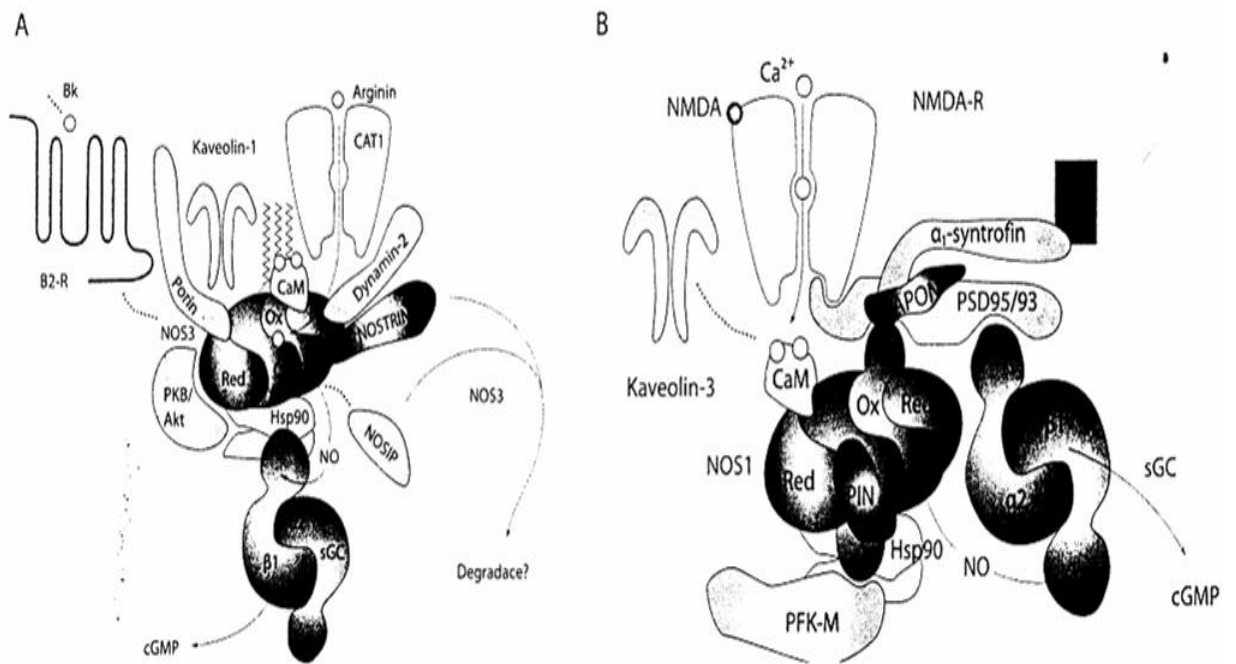
Bylo prokázáno, že nNOS se může prostřednictvím PSD 95 a PSD 93 (postsynaptické denzitní proteiny) navázat na cytozolovou část NMDAr a podílet se na jeho stimulaci a tím na influxu iontů Ca<sup>2+</sup> do cytozolu. Modulací influxu Ca<sup>2+</sup> je tak nNOS schopna nepřímo zpětně modulovat i svoji vlastní katalytickou činnost. Naopak protichůdně v tomto směru působí protein CAPON (C-terminal PZD ligant protein). CAPON konkurenčně působí na PSD 95/93 a nutí nNOS se oddělit od NMDAr. Tím inhibuje produkci NO (14).

Inhibice nNOS je možná také interakcí mezi nNOS a PIN (Protein Inhibitor of nNOS). PIN je vysoce konzervovaným malým proteinem, o kterém se předpokládá, že destabilizačně působí na dimerizaci nNOS (58).

Aktivitu eNOS dále mohou regulovat rozličné humorální faktory. Patří mezi ně acetylcholin (Ach), vaskulární endoteliární faktor (VEGF), bradykinin (Bk), estrogeny, angiotenzin-II a metabolický stres. Stimulačně také působí



mechanické faktory jako např. vystavování buněk hemodynamickým silám (laminární smykové napětí, cyklické namáhání). Uvedené faktory mohou být v cytozolu jednak podnětem k aktivaci signálních drah, nebo do již aktivovaných pouze vstupují a modulují je. Konečným důsledkem je uvolnění  $\text{Ca}^{2+}$  z endoplazmatického retikula nebo fosforylace serinových zbytků (13).



Obr. 2: Protein- proteinová interakce eNOS a nNOS v dimerním uspořádání

Převzato z Jáchymová a spol. (15)

Ox- hemová doména

Red - reduktázová doména

Bk - bradykinin

B2-R - bradykininový receptor typ 1

CaM - kalmodulin

CAT1 - aminokyselinový transportér kationtů

PKB - proteinkináza B

sGC - solubilní guanylátcykláza

NOSIP - eNOS interacting protein

HSP90 - heat shock protein

PIN - protein inhibitor NOS

CAPON - C-terminal PDZ ligant protein

sPSD 95/93 - postsynaptické denzitní proteiny

Doporučené označení	NOS I	NOS II	NOS III
Alternativní označení	<b>nNOS</b> (neuronální); ncNOS (neural constitutive); bNOS (brain=mozková)	<b>iNOS</b> (inducibilní); mNOS (makrofágová)	<b>eNOS</b> (endoteliální); ecNOS (endothelial constitutive)
Molekulová váha	~160 kDa	~130 kDa	~133 kDa
Gen na lidském chromosomu	12	17	7
Vyžaduje Ca <sup>2+</sup>	+	-	+
Lokalizace v buňce	cytozol	cytozol	buněčná membrána (kaveoly)
Výskyt	některé centrální a periferní neurony, některé buňky epitelu a cévního hladkého svalu, kosterní sval; není v glii	makrofágy, glie, hepatocyty, endotel, epitel, srdeční myocyty, hladký sval,...	cévní endotel, plicní a renální epitel, trombocyty, srdeční myocyty, hipokampus
Expresce proteinu	konstitutivní (trvalá)	většinou inducibilní (pouze po stimulaci cytokiny apod.);  někde snad konstitutivní (epitel dýchacích cest, nosní dutiny ?)	konstitutivní (trvalá); expresi moduluje mechanické namáhání endotelových buněk
Regulace aktivity	Ca <sup>2+</sup> , ser/tyr fosforylace, NO (zpětnovazební inhibice)	jakmile je protein exprimován, není aktivita regulována; NO (zpětnovazební inhibice)	Ca <sup>2+</sup> , ser/tyr fosforylace, modulace exprese
Hlavní (pato)fysiologický význam	neurotransmise, neuromodulace	boj s infekcí a tumory (cytotoxicita)	regulace cévního tonu, průtoku krve tkáněmi, krevního tlaku

Tab. 1: Základní charakteristika jednotlivých NOS

Převzato z Kupová a spol. (13)

NOS je důležitým enzymovým proteinem, na který je zaměřena mimořádná pozornost. Studium syntáz NO se v poslední době stalo jedním z nejfrekventovanějších ve vztahu k nejrůznějším fyziologickým a patofyziologickým procesům a jejich aplikací v praktické medicíně. Na mnoho otázek však neznáme odpověď. Detailně popsány jsou zejména struktury hemové části všech tří izoform, ostatní struktury již s menší přesností. Využití moderních metod molekulární biologie a krystalografie by mohlo dopomoci k odhalení nových dosud neznámých mechanismů katalýzy zprostředkované jednotlivými NOS a jejich vzájemné souvislosti (15).

### 3. Metabolity NO u poruch CNS

Vzhledem ke komplexnosti biologického působení NO na organismus není překvapující i jeho významná role v patofyziologii CNS. Obdobně se i některé z jeho metabolitů mohou podílet na poruchách CNS. Jejich úlohu můžeme rozdělit na 3 základní roviny. Jednak je to přímé poškození membrán, buněk i tkání CNS, jednak mohou být účastníky signálních kaskád vyústujících v destrukci CNS (3) a dále je to role indikační, kdy některé z metabolitů mohou být markerem společného působení reaktivních radikálů kyslíku a dusíku v CNS a tím i jimi navozených změn (4, 11).

#### 3.1 NO a reaktivní metabolity dusíku (RMD)

NO a některé z jeho metabolitů mohou být za určitých okolností prudce jedovatými látkami, které jsou zařazovány mezi skupinu hlavních zástupců tzv. reaktivních metabolitů dusíku (RMD) v CNS. RMD obdobně jako reaktivní metabolity kyslíku (RMO) plní i celou řadu fyziologických funkcí. Je třeba odlišovat indukci masivní produkce RMD, které jsou převážně nástrojem imunitní obrany a indukci změn nízkých koncentrací, které jsou převážně regulačním mechanismem. Jak již bylo řečeno, RMD jsou ale schopny díky své vysoké aktivitě poškozovat buněčné struktury CNS a proto je jejich tvorba velmi přísně regulována. V případě nerovnováhy mezi produkcí RMD a jejich odstranováním vzniká oxidační stres, který může mít v CNS i fatální následky (50).

#### 3.2 Metabolity NO a radikály

Metabolizace NO v daném biologickém systému potažmo v CNS závisí na jeho koncentraci, difuzibilitě a koncentraci dalších bioreaktantů (superoxiddismutáza, kataláza, xantinoxidáza, SH-skupiny, OH-skupiny, reaktivní formy kyslíku, hemoglobin a další). NO buď může získat elektron za vzniku nitroxylového aniontu ( $\text{NO}^-$ ) nebo ztratit elektron za vzniku nitrosoniového kationtu ( $\text{NO}^+$ ), které pak reagují s dalšími molekulami nebo radikály (54). Jako volné radikály (NO je rovněž radikál – jeho radikálovost se neoznačuje tečkou, poněvadž je jeho „radikálovost“ implicitní v označení) jsou

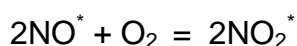
označovány atomy a molekuly, které obsahují nepárový elektron (66). V biologických systémech vznikají radikály odejmutím či přijetím elektronu. Zpravidla se jedná o vysoce reaktivní částice, které mohou iniciovat řadu dalších reakcí, protože se snaží doplnit si párový elektron odejmutím elektronu či jeho předáním jiným molekulám, jako jsou mastné kyseliny a lipidy, aminokyseliny a proteiny, mononukleoidy a polynukleoidy (nukleové kyseliny). Tyto molekuly se pak samy mění na radikály a dochází k další propagaci reakce. K terminaci dochází po interakci dvou radikálů a spojením nepárových elektronů (75).

### 3.3 Metabolity NO a oxidace

NO, i když je radikálové povahy, reaguje *in vivo* s většinou molekul velmi pomalu, protože jak jeho difuze do krve, tak jeho inaktivace hemoglobinem jsou mnohem rychlejší než uvažované reakce. Za těchto podmínek tak reaguje dostatečně rychle jen s tranzitivními kovy a radikály. Ve tkáních se NO rychle oxiduje na vyšší oxidy dusíku. Rychlost autooxidace závisí na poměru koncentrací NO a molekulárního kyslíku ( $O_2$ ). Ve tkáních reaguje kyslík s NO v hydrofobním prostředí membrán, reakce zde probíhá 20x rychleji než ve vodě (autooxidace v roztoku je cca 200x rychlejší než v plynné fázi). Obecně však poločas těchto reakcí není konstantní, ale závisí na počáteční koncentraci. Autooxidace je rychlá (několik s.) je-li NO a  $O_2$  hodně, ale celkem pomalá, je-li NO málo, jak je tomu většinou v tkáních, kde je NO méně než  $10 \mu M$ . Tam může být poločas až 500 s. Redoxní reakcí v přítomnosti  $O_2$  mohou postupně vzniknout z NO konečné produkty dusitan ( $NO_2^-$ ) a dusičnan ( $NO_3^-$ ) a meziprodukty oxid dusitý ( $N_2O_3$ ), oxid dusičitý ( $N_2O_4$ ) a radikál oxidu dusičitého ( $NO_2^*$ ) (30). Zde je nutno podotknout, že některé uvedené metabolity NO mohou v CNS vznikat i jinými cestami než reakcí s  $O_2$  (viz dále).

### 3.4 Radikál oxidu dusičitého ( $NO_2^*$ )

$NO_2^*$  také jako NO obsahuje nepárový elektron, ale vyznačuje se mnohem vyšší reaktivitou a toxicitou. Vzniká odbouráváním NO:



Jako sekundární radikál může  $\text{NO}_2^*$  rovněž vzniknout oxidací  $\text{NO}_2^-$  např. působením myeloperoxidázy (MPO) a štěpením kyseliny peroxydusité (ONOOH) (63).

$\text{NO}_2^*$  jako oxidační činidlo reaguje s nenasycenými mastnými kyselinami za vzniku alkylového radikálu a kyseliny dusité. Patologickou reakcí  $\text{NO}_2^*$  v CNS je i nitrace tyrozinu v proteinech, která vede k destrukci tkání. Reakcí  $\text{NO}_2^*$  s NO vzniká  $\text{N}_2\text{O}_3$ , který je vlastním nitrosilačním činidlem (11). NO patří mezi účinné oxidanty lyzující buněčné membrány (68).

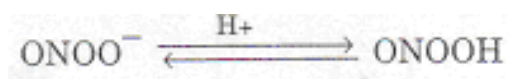
### 3.5 Peroxynitrit ( $\text{ONOO}^-$ )

Významná je reakce NO se superoxidem ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) za vzniku peroxynitritu ( $\text{ONOO}^-$ ).  $\text{ONOO}^-$  vzniká extrémně rychlou reakcí zejména za patofyziologických podmínek. Pro porovnání tato reakce probíhá 3,5x rychleji než reakce superoxidu ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) na peroxid vodíku za účasti superoxidodismutázy (SOD) a např. 3x rychleji než reakce NO s oxyhemoglobinem. Rychlostní konstanta je řádově  $10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , což znamená, že jde o reakci ovlivňovanou v podstatě jen difuzí. Zjednodušeně lze říci, že s každým zvýšením koncentrace  $\text{O}_2^{\bullet-}$  a NO 10x se koncentrace  $\text{ONOO}^-$  zvýší 100x, tedy i při relativně malém zvýšení produkce obou radikálů může  $\text{ONOO}^-$  dosahovat cytotoxických hladin. Ke vzniku  $\text{ONOO}^-$  je potřeba současná tvorba  $\text{O}_2^{\bullet-}$  a NO ve stejném kompartmentu (11).

Ohledně vlastního vzniku  $\text{ONOO}^-$  je pravděpodobné, že vzniká blíže místu vzniku superoxidu. NO má totiž poločas v rozsahu několika s. a rychle disociuje přes membrány oproti  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , který má poločas méně než několik ms a překračuje membránu jen s pomocí iontového kanálu (11).

$\text{ONOO}^-$  může vzniknout i jinou cestou než reakcí NO se superoxidem a to činností MPO jak bude popsáno dále.

Aniont  $\text{ONOO}^-$  je v rovnováze se svou protonovou formou s kyselinou peroxydusitou ( $\text{ONOOH}$ ).

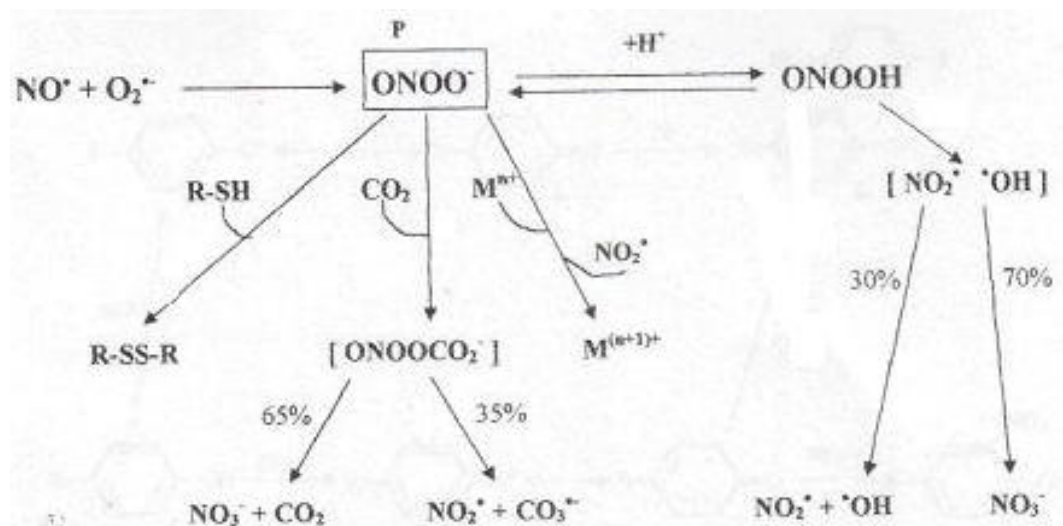


Tato rovnováha závisí na pH, disociační konstanta kyseliny (pKa) je 6,8 (při pH 7,4 je asi 80% ve formě aniontu). Obě formy mají různou reaktivitu a různou schopnost difuze.  $\text{ONOOH}$  je svou reaktivitou považována za mnohem

méně škodlivější než  $\text{ONOO}^-$ . Peroxynitrit překračuje biologickou membránu přes iontový kanál,  $\text{ONOOH}$  pasivní difuzí. Koeficient permeability  $\text{ONOO}^-$  je cca 400x rychlejší než permeabilita superoxidu. Transmembránová difuze  $\text{ONOO}^-$  je také rychlejší než jeho reakce s biologickými cíly (např. 30x rychlejší než reakce s  $\text{CO}_2$ ) (11).

Tvorba  $\text{ONOO}^-$  se v CNS zvyšuje po řadě stimulů, např. při ischemii/reperfuzi, sepsi, působením cytokinů, endotoxinu (LPS) především v makrofázích, neutrofilech a endotelových buňkách (52).

$\text{ONOO}^-$  vzhledem ke své mnohem delší životnosti než samotný NO jednak zasahuje i do míst vzdálených místu jeho vzniku, jednak svou reaktivitou a průběhem metabolismu, spojeného se vznikem dalších toxických forem, patří k extrémně destruktivním a toxickým RMD.  $\text{ONOO}^-$  a  $\text{ONOOH}$  jsou velmi silné oxidanty zodpovědné za cytotoxicitu běžně připisovanou NO. Rozmanité biomolekuly jimi mohou být oxidovány přímo, nebo ve formě sekundárních radikálů.  $\text{ONOO}^-$  např. oxiduje nenasycené mastné kyseliny (spouští tak řetězec peroxidace lipidů), thioly, deoxyribózu a DNA, způsobuje tvorbu proteinových karbonylů a fragmentaci proteinů (i když jen v malé míře) a oxiduje antioxidanty (63).  $\text{ONOOH}$  má schopnost nitrovat a tím významně pozměňovat např. mitochondriální enzym akonitasu, čímž se blokuje aerobní oxidace glukosy a klesá tvorba ATP (11).



Obr 3: Vznik peroxynitritu a následné hlavní reakce metabolizace NO  
převzato z Fišárková (11)

### 3.6 Myeloperoxidáza (MPO), eozinofilní peroxidáza (EPO)

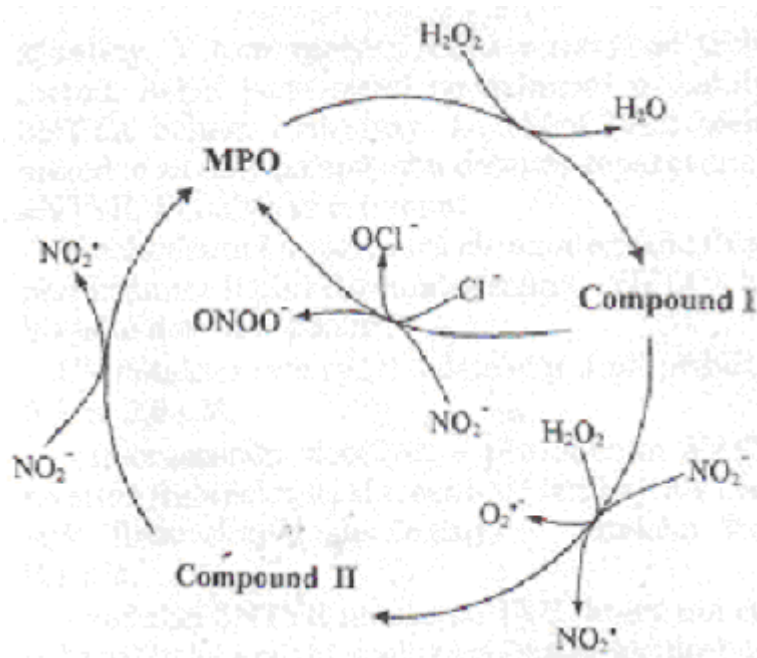
Významným zdrojem metabolitů NO za patologických stavů CNS mohou být i peroxidázy MPO a EPO vyskytující se zejména v místě aktivovaných zánětlivých buněk. V případě MPO je to hlavně v azurofilních granulech polymorfonukleárních neutrofilů, monocytů a mikrofágů. EPO se nachází v aktivovaných eosinofilech (11).

MPO i EPO, podobně jako jiné hem-peroxidázy (např. laktoperoxidáza), jsou katalytické enzymy, jejichž prostetickou skupinou je protohem. V přítomnosti peroxidu vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) katalyzují oxidaci celé řady substrátů, přičemž není možné vždy jednoznačně říci, který ze substrátů je preferován. Je však obecně známé, že hlavním substrátem pro MPO jsou chloridové ionty ( $\text{Cl}^-$ ). Po jejich reakci s  $\text{H}_2\text{O}_2$  vzniká kyselina chlorná ( $\text{HOCl}$ ). Reakcí  $\text{HOCl}$  s  $\text{NO}_2^-$  vzniká nitrosonium chlorid ( $\text{NO}_2\text{Cl}$ ), což je velmi silná oxidační, nitrační a chlorizační sloučenina (12,21).

$\text{NO}_2^-$  je společným substrátem pro MPO i EPO a je hlavním produktem ve vodných roztocích (většinou je dále oxidován na  $\text{NO}_3^-$ ). Obě peroxidázy katalyzují jednoelektronovou oxidaci  $\text{NO}_2^-$  za vzniku reaktivního radikálu  $\text{NO}_2^*$  a tyrosin za vzniku tyrosyl-radikálu ( $\text{Tyr-O}^*$ ). Reaktivní radikál  $\text{NO}_2^*$  je schopen nitrace (nahrazení vodíku nitroskupinou  $\text{NH}_2$ ) aminokyseliny tyrosinu za vzniku stabilních aduktů. Reakcí  $\text{NO}_2^*$  a  $\text{Tyr-O}^*$  vzniká nitrotyrosin. Nitrace tyrosinu může být za katalytické činnosti MPO způsobena i  $\text{ONOO}^-$ . Jak již bylo v předešlém naznačeno,  $\text{ONOO}^-$  může vzniknout i jinak než reakcí NO se superoxidem a to z  $\text{NO}_2^-$  působením MPO (11).

Za zmínku stojí, že EPO může využít NO jako substrát pro tvorbu zatím neidentifikovatelného produktu s reaktivitou podobnou toxickému  $\text{ONOO}^-$  (12).





Obr. 4: Schématické znázornění oxidace  $\text{NO}_2^-$  myeloperoxidázou

převzato z Fišárková (11)

$\text{Fe}^{\text{III}}$  hemové centrum MPO je oxidováno  $\text{H}_2\text{O}_2$  za vzniku kationického porfirinového radikálu  $\text{Fe}^{\text{IV}} = \text{O}^{\cdot}$  (Compound I), který může oxidovat rozličné substráty jedno- nebo dvouelektrodovým mechanismem. Tím vzniká  $\text{Fe}^{\text{IV}} = \text{O}$  sloučenina (Compound II) nebo původní  $\text{Fe}^{\text{III}}$  enzym. Compound II také může být redukován  $\text{NO}_2^-$  na původní  $\text{Fe}^{\text{III}}$  enzym, a tím je umožněna další MPO-katalyzovaná oxidace jiných substrátů, jako  $\text{Cl}^-$ .

### 3.7 Kyselina dusitá ( $\text{HNO}_2$ )

$\text{HNO}_2$  vzniká v CNS při nízkém pH z  $\text{NO}_2^-$  v ischemických tkáních a ve fagolysosomech. V jiných tkáních pravděpodobně pH nikdy natolik neklesne, aby se vytvořila  $\text{HNO}_2$ .  $\text{HNO}_2$  může nitrovat tyrozin, je to však velmi pomalý proces. Ve větší míře modifikuje jiné aminokyseliny (např. tryptofan, lyzin, histidin atd.).  $\text{HNO}_2$  je možným zdrojem karcinogenních nitrosaminů (11).

### 3.8 3-nitrotyrozin (3NTYR)

3NTYR se stal běžně používaným indikátorem radikálového poškození tkání. I když řada otázek kolem tvorby, odbourávání i změn funkce nitrovaných proteinů nebyla dosud dostatečně objasněna, je zřejmé, že se na jeho vzniku

podílí především  $\text{ONOO}^-$  a případně MPO. Předpokládá se, že 3NTYR je v organismu stabilní, nebo dokonce téměř neodbouratelnou sloučeninou, avšak studií zabývajících se rychlostí jeho vzniku a odbourávání je dosud poměrně málo. I když v metabolismu 3NTYR existují mezi tkáněmi výrazné rozdíly, jeho zvýšený výskyt vždy indikuje přítomnost patologického procesu (11).

$\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  jsou nejstálejšími produkty metabolismu NO v organismu a proto je jejich zvýšená celková koncentrace indikátorem hyperprodukce NO a jeho oxidace. Nadprodukce  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  v organismu - potažmo v CNS - může být stejně jako v případě výskytu 3NTYR markerem patologických stavů (7).

## 4. Migréna

Bolest hlavy je jednou z nejčastějších obtíží postihujících lidstvo. Značný význam pro svoji četnost a nepříznivý vliv na kvalitu života v tomto rámci zaujímá migréna.

Migréna představuje odedávna závažný medicínský, ale i socioekonomický problém (26). I když je její výskyt registrován častěji u pacientů městských aglomerací, starověké záznamy dokazují, že není ani zdaleka onemocněním moderní doby (62). Na základě souhrnu populačních studií provedených v devadesátých letech min. století se prevalence migrény pohybuje mezi 10 a 15 % s poměrem žen k mužům cca 3:1 (24, 40).

Migréna je řazena mezi tzv. primární bolesti hlavy. Jedná se o velkou skupinu cefalalgii, kdy žádné pomocné vyšetření nezjistí strukturální intrakraniální lézi, ale ani jiné organické somatické onemocnění, které by bylo s migrenózní cefaleou v přímé souvislosti. Intenzita bolesti při záchvatech je většinou silná a interferuje tak nejen s pracovní činností, ale mnohdy i se společenským a rodinným životem pacienta. Typickým příznakem je akcentace bolesti i při minimální fyzické zátěži a předklonu hlavy. Migréna je chronické záchvatovité onemocnění, zpravidla přímo neohrožující život. Klinické neurologické vyšetření v mezidobí mezi atakami je zcela normální. Neexistuje žádné laboratorní ani jiné vyšetření, které by specificky prokázalo migrénu. Morfologický nálezn při vyšetření mozku je u migreniků normální (62).

### 4.1 Klasifikace dle IHS a klinický obraz migrény

Podle všeobecně uznávané klasifikace bolesti hlavy vypracované Mezinárodní společností pro bolest hlavy (the International Headache Society, IHS) se za migrénu pokládají bolesti hlavy trvající při nedostatečném léčení 4-72 hodin, které nastupují záchvatovitě a opakují se v nepravidelných intervalech, jsou pulzující, minimálně středně silné, jednostranné i oboustranné nebo stranu mění a jsou provázeny alespoň jedním z doprovodných příznaků: nauzea, zvracení, fotofobie, fonofobie (26, 40).

1. Migréna
  - 1.1 Migréna bez aury
  - 1.2 Migréna s aurou
    - 1.2.1 Typická aura s migrénou
    - 1.2.2 Typická aura s nemigrenózní bolestí hlavy
    - 1.2.3 Typická aura bez bolesti hlavy
    - 1.2.4 Familiární hemiplegická migréna
    - 1.2.5 Sporadická hemiplegická migréna
    - 1.2.6 Migréna bazilárního typu
  - 1.3 Periodické syndromy dětského věku, předcházející či doprovázející migrénu
    - 1.3.1 Cyklické zvracení
    - 1.3.2 Abdominální migréna
    - 1.3.3 Benigní paroxysmální vertigo v dětství
  - 1.4 Retinální migréna
  - 1.5 Komplikace migrény
    - 1.5.1 Chronická migréna
    - 1.5.2 Status migrenosus
    - 1.5.3 Perzistující aura bez mozkového infarktu
    - 1.5.4 Migrenózní infarkt
    - 1.5.5 Epileptický záchvat spuštěný migrénou
  - 1.6 Pravděpodobná migréna
    - 1.6.1 Pravděpodobná migréna bez aury
    - 1.6.2 Pravděpodobná migréna s aurou
    - 1.6.2 Pravděpodobná chronická migréna

*Tab. 2: Klasifikace IHS (40)*

#### 4.1.1 Migréna bez aury (IHS 1.1)

Není provázena žádnou další neurologickou symptomatologií. Jde o zdaleka nejčastější typ migrény (spolu s případy, kdy se migréna bez aury „transformací“ mění v chronickou migrénu, tvoří asi 80 % všech migrén).

Vlastní bolesti hlavy často předcházejí podromální příznaky jako změna nálady, chování, ospalost či chuť k jídlu a žízeň (40).

#### 4.1.2 Migréna s aurou (IHS 1.2 )

Podle toho, zda aura je nebo není přítomna, mluvíme o migréně s aurou nebo bez aury. Aura jsou ložiskové neurologické příznaky lokalizované do mozkové kůry nebo do mozkového kmene provázející ataku migrény. Aura obvykle předchází bolest hlavy, může však přetrvávat i ve fázi bolesti hlavy nebo v případě prolongované aury i po jejím skončení. Aura může mít příznaky negativní i pozitivní (25).

Někdy je obtížné rozlišit migrenózní auru od tranzitorní ischemické ataky i po podrobném vyšetření (23).

#### 4.1.3 Typická aura s migrénou (IHS 1.2.1)

Typická aura se zpravidla rozvíjí v průběhu 5-20 minut a odezní obvykle do 60 minut. Může být zraková, motorická a tranzitorní, se senzitivními nebo i jinými příznaky (62).

Nejcharakterističtějším příznakem zrakové aury je scintilační skotom. Projevuje se scintilacemi (třpytící se cik-cak obrazce) začínajícími blízko centra zrakového pole, které se pomalu šíří laterálním směrem na periferii zorného pole a je následována skotomem, tj. obloukovitou nebo pruhovitou oblastí zkalené ostrosti vidění. Podle obecně přijímaného názoru je původ skotomu lokalizován do zrakové kůry. U části postižených se objevuje tzv. fotopsie. Jsou to bílé barevné geometrické obrazce (např. jiskřičky, skvrny, záblesky, pruhy světla). Objevují se opět v zorné části pole a také často začínají v centru. Pokud jsou ale rozloženy v zorném poli obou očí, bývají součástí tzv. bazální migrény (25).

Senzitivní příznaky se projevují brněním nebo mravenčením příslušné části těla, pomalu postupují, přičemž za sebou zanechávají místní přechodné znecitlivění. Někdy se mohou senzitivní příznaky objevit na více místech současně (např. ruka a příslušná část obličeje). Může být přítomna i polohová necitlivost (26).

U motorických příznaků a fatické poruchy se někdy objeví i tranzitorní, zpravidla mírná, jednostranná slabost končetiny nebo končetin (monoparéza nebo hemiparéza, 24).

U typické aury se však mohou vyskytovat i symptomy intenzivních vjemů většinou povahy silných nepříjemných pachů, u sluchových příznaků rachot, dunění, ale i složitější vjemy jako např. hudba. U déletrvajících aury se pak mohou objevit snové stavy, zmatenost, dezorientace. Jednotlivé příznaky se často objevují v průběhu jednoho záchvatu postupně za sebou. Zřejmě odrážejí stejné nebo podobné patofyziologické děje probíhající v různých oblastech mozkové kůry, např. propagace scintilace se skotomem odpovídá postupujícím paresteziím s následným znecitlivěním (25).

#### 4.1.4 Typická aura s nemigrenózní bolestí hlavy (IHS 1.2.2 )

Bolest hlavy může někdy chybět a je přítomna pouze aura bez bolesti hlavy. U migrény s aurou poměrně obvyklý jev (40).

#### 4.1.5 Typická aura bez bolestí hlavy (IHS 1.2.3)

Bolest hlavy může někdy chybět a je přítomna pouze aura bez bolesti hlavy, což je pro migrénu s aurou poměrně obvyklé. Při pozdějším začátku, zejména po 40. roce, je třeba vyloučit jiné ložiskové postižení CNS (25).

#### 4.1.6 Familiární hemiplegická migréna (IHS 1.2.4)

Jde o vzácný typ migrény s aurou, manifestující se kromě zrakových, senzitivních a fatických příznaků (za přítomnosti alespoň jednoho z nich) i plně reverzibilní hemiparézou. Jde o první typ migrény, kde byla prokázána mutace genu na 19. chromozomu FHM 1 a potvrzen dědičný přenos, přičemž alespoň jeden příímý příbuzný v 1. nebo 2. stupni trpí stejnými záchvaty (62). Dědičnost je autozomálně dominantní. U druhého subtypu (FHM 2) jde o mutaci na 1. chromozomu. Onemocnění začíná ve 2. nebo 3. deceniu. Zpočátku trvají lokální příznaky do 60 minut a jsou následovány jednostrannou migrenózní bolestí (24). Postupně dochází k progresi onemocnění. Samotný průběh bývá většinou těžký, hemiparéza je výrazného stupně, nezřídka až úplná hemiplegie, může přetrvávat i řadu dní. Kromě dominujícího motorického deficitu pozorujeme i

senzitivní a zrakové hemisympomy (parestezie, necitlivost, hemianopsii) lokalizované vždy na straně parézy (40). Vzácně se může přidružit dysfagie, horečka, zmatenost, somnolence, někdy až koma. Přibližně v 50% se vyskytuje chronická progresivní cerebelární ataxie nezávislá na migrenózních atakách. Familiární hemiplegická migréna bývá někdy zaměňována s epilepsií (62).

#### 4.1.7 Sporadická hemiplegická migréna (IHS 1.2.5)

Je to typ migrény s aurou včetně hemiparézy, trvající od 5 minut do 24 hodin. Od předchozí jednotky se liší absencí familiárního výskytu (40).

#### 4.1.8 Migréna bazilárního typu (IHS 1.2.6)

Bazilární migréna se může projevovat progresivnějšími negativními symptomy než jiné typy migrén. U zrakových projevů se může jednat o pocit šera, vjemy deformovaných tvarů v celém zrakovém poli, extrémně i o kompletní přechodnou ztrátu zraku (40). Rovněž se mohou vyskytnout synkopické poruchy vědomí, doprovázené oboustrannou necitlivostí končetin, necitlivostí kolem úst a na jazyku, poruchou sluchu, zvracením apod. Příznaky jsou přisuzovány dysfunkci mozkového kmene a týlních laloků. Bazilární migréna postihuje často dospívající dívky a bývá obvykle sdružena s migrénou s typickou aurou (25).

#### 4.1.9 Periodické syndromy dětského věku (IHS 1.3)

Předcházející či doprovázející dětské periodické syndromy (tzv. prekursor migrény) mohou migrénu předcházet, nebo s ní být spojeny (62). Mezi tyto syndromy se řadí:

##### 4.1.9.1 Cyklické zvracení (IHS 1.3.1)

Typicky se objevuje u dětí předškolního věku (průměrně kolem 5. roku), stejně často u chlapců i dívek. Obvykle spontánně vymizí v době nástupu puberty, jen část pacientů mívá obtíže i v adolescenci. Častý je pak přechod v abdominální migrénu, nebo rovnou v typickou migrénu dospělých. Jednotlivé ataky jsou charakterizovány prudkým zvracením, obvykle s příměsí žluče, hlenu či příměsí krve. Doprovodnými příznaky bývá bolest, nauzea, bolesti břicha,

únava a apatie. Začátek obtíží nastává typicky kolem 2. – 4. hodiny ranní či po probuzení. Nejvýraznější obtíže bývají v první hodině, frekvence a intenzita zvracení posléze klesá. V mezidobí jsou pacienti zcela zdraví (40, 43, 62).

#### **4.1.9.2 Abdominální migréna (IHS 1.3.2)**

Idiopatické rekurentní onemocnění dětského věku, charakterizované epizodickou abdominální bolestí střední až silné intenzity, manifestující se v atakách 1 až 72 hodin, asociované s vazomotorickými příznaky, anorexií, nauzeou a zvracením. U mnoha dětí s abdominální migrénou se později rozvine migrenózní bolest hlavy (43, 62).

#### **4.1.9.3 Benigní paroxysmální vertigo v dětství (IHS 1.3.3)**

Začíná obvykle v časném dětství, může předcházet migrénu, přecházet ve vlastní migrenózní záchvaty nebo se vyskytovat s migrénou souběžně. Frekvence atak je různá – jedenkrát za měsíc až několikrát týdně. Syndrom mizí za několik měsíců nebo let, může předcházet migrénu, přecházet ve vlastní záchvaty migrény nebo se může vyskytovat souběžně se záchvaty. Vyznačuje se náhlými záchvaty závratí s poruchou rovnováhy, ataxií, anxiétou a zvracením. Obvyklé je zblednutí a zpotení. Může trvat sekundy až hodiny, nejčastěji 1-5 minut. U některých atak se mohou vyskytovat tepavé hemikranie. Některé studie usuzují, že benigní paroxysmální vertigo není jen prekurzorem migrény. Jde pravděpodobně o heterogenní onemocnění (25, 43, 62).

#### **4.1.10 Retinální migréna (IHS 1.4)**

Jde o opakované ataky monookulární zrakové poruchy, trvající obvykle méně než 60 minut a manifestující se scintilacemi, skotomem nebo slepotou a asociované s migrenózní bolestí hlavy (40).

#### **4.1.11 Chronická migréna (IHS 1.5.1)**

Tato nosologická jednotka byla původně nazývána transformovanou migrénou vystihující přechod typické migrenózní bolesti hlavy v denní bolest hlavy. Tvoří 78 % (tedy většinu) tzv. chronických denních bolestí hlavy. Vyvíjí se z epizodické migrény bez aury a obvykle nastupuje v 2. nebo 3. deceniu. Bolest hlavy se vyskytuje 15 nebo více dní v měsíci po dobu delší než tři měsíce při



vyloučení významnějšího podílu nadužívání medikace. Postupně narůstá frekvence záchvatů bolesti, současně ale klesá jejich intenzita. Bolest hlavy se stává tupá, difuzní a tlaková. Obvykle se objevuje časně zrána, takže pacienta budí. Na tomto pozadí se mohou vyskytovat i záchvaty typických migrenózních bolestí. Asociované příznaky (nauzea, fotofobie, fonofobie) se zmírňují nebo i chybí (25, 40).

#### 4.1.12 Status migrenosus (IHS 1.5.2)

Jde o stav, kdy bolesti obvykle silné intenzity přetrvávají bez přerušení déle než 72 hodin. Kromě toho splňuje všechny atributy migrény bez aury (40).

#### 4.1.13 Perzistující aura bez mozkového infarktu (IHS 1.5.3)

Příznaky aury přetrvávají i více než jeden týden a mohou být oboustranné. Neuroradiologickými metodami není potvrzena mozková ischemie. Kromě toho má stav všechny atributy migrény s aurou (40).

#### 4.1.14 Migrenózní infarkt (IHS 1.5.4)

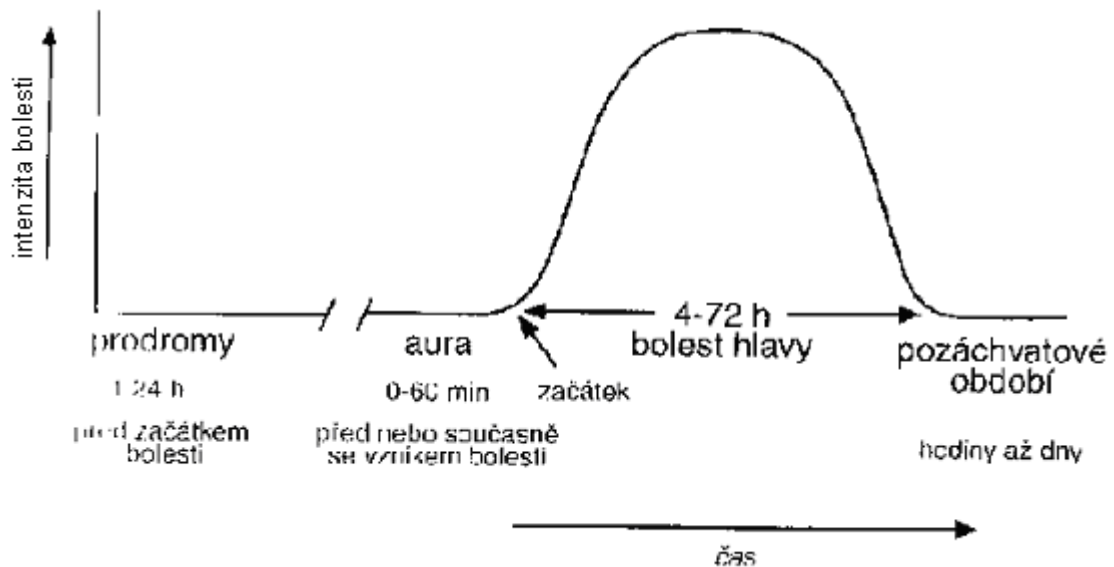
O něm hovoříme, jestliže migréna má všechny atributy migrény s aurou, jeden nebo více příznaků aury přetrvává déle jak 60 minut a neuroradiologickými metodami prokážeme ischemické změny v mozkové arei, odpovídající fokálním příznakům. Cévní změny při migrenózní auře probíhají nejspíše na úrovni mikrocirkulace, protože angiografie během ataky obvykle neproказuje vazokonstrikci velkých cév. Studie ukázaly, že migréna představuje obecně zvýšené riziko vzniku ischemického iktu, přičemž vyšší riziko je u migrény s aurou (25, 40, 62).

#### 4.1.15 Epileptický záchvat spuštěný migrénou (IHS 1.5.5)

Migréna a epilepsie jsou dva prototypy záchvatového onemocnění mozku. Bolest hlavy migrenózního typu je poměrně často popisována v postiktálním stadiu u epileptiků, někdy se však vyskytne epileptický záchvat během ataky migrény nebo ji následuje. Diagnostická kritéria: bolest hlavy má všechny atributy migrény s aurou. Epileptický záchvat se objeví během migrenózní aury nebo do jedné hodiny po ní (40).

#### 4.1.16 Pravděpodobná migréna (IHS 1.6)

Ataky bolesti velmi připomínají charakter migrény. Bolest splňuje až na jedno všechna ostatní kritéria migrény bez aury nebo migrény s aurou (40).



Obr. 5: fáze ataky migrény  
převzato z Kotas (25)

#### 4.1.17 Prodromy

Před záchvatem se u některých pacientů objevují tzv. prodromy. Vykytují se v průměru 1 – 24 hodin před záchvatem a nejsou provázeny bolestí. Prodromy mají pravděpodobně svůj původ v hypothalamu. Může se u nich dostavit nadměrné zívání, ospalost, únava, hlad nebo touha po jídle, často chuť na sladké. Mohou se také projevit zvýšenou aktivitou, euforií nebo naopak depresí, pocitem duševního napětí a předrážděností (25, 40).

#### 4.1.18 Pozáchvatové období

V pozáchvatovém období po vymizení úlevy od bolesti hlavy může nastat pocit celkového vyčerpání, letargie a netečnosti. Naopak se může objevit i předrážděnost a porucha koncentrace. Řídce jsou u některých pacientů popisovány chutě na něco sladkého nebo pocity euforie. Některé příznaky v pozáchvatovém období připomínají prodromální fázi (25, 40).

## 4.2 Patofyziologie migrény

Již na počátku je nutno podotknout, že objasnit mechanismus etiopatogeneze migrény v celé své délce a ve všech svých aspektech se doposud nepodařilo, přinejmenším na něj nepanuje jednoznačný názor (23). U pacientů existuje velké množství různorodých spouštěcích faktorů (psychosociální stres, fyzikální podněty, hormonální změny atd.), které nejsou u všech migreniků stejné (40). Rovněž vlastní průběh záchvatu má řadu podob. U migrény se s největší pravděpodobností uplatňuje více článků etiopatogenetického procesu a iniciální faktory do něj vstupují na různých úrovních (25).

Postupem času vzniklo několik základních koncepcí vzniku a rozvoje migrény (vaskulární, destičková, neurogenní, hypoxická) postihujících zpravidla jen dílčí část patofyziologie onemocnění. V současnosti je nejvíce akceptovaná sjednocující teorie neurogenní – trigeminovaskulární, ve které je jedna z klíčových rolí přisuzována NO. Tato teorie se opírá zejména o spojitost fenoménu šířící se deprese korových oblastí a dějů probíhajících v trigeminovaskulárním systému (23).

### 4.2.1 Poruchy korových oblastí

Patofyziologické procesy probíhající na korové úrovni spadají především do období fáze aury a aktivace trigeminovaskulárního systému do fáze bolesti. Korová porucha u migrény má podobu pomalu a postupně se šířící vlny hypoperfúze korových oblastí a na základě bližšího poznání jejich mechanismů byla postavena neurogenní teorie migrény (69). Korová porucha u migrény v mnoha aspektech velmi připomíná Leovu korovou šířící se depresi spontánní elektrické aktivity experimentálně navozenou u laboratorních zvířat. Leovu korovou depresi objevil portugalský fyziolog Leao už v r. 1944, od té doby je intenzivně studována a mnohé teoretické úvahy a experimentální studie mechanismů migrény z ní vycházejí (25).

#### 4.2.1.1 Leaova korová šířící se deprese spontánní elektrické aktivity

Byla objevena už v polovině minulého století v kůře králíků, později vyvolána i u laboratorních potkanů. Leaovu depresi lze navodit u zvířat stimulací obnažené mozkové kůry. Nejběžnějším podnětem je krátká opakovaná elektrická stimulace vysokofrekvenčními elektrickými impulsy na povrchu mozku, nebo mechanická stimulace kortexu lehkými dotyky skleněnou tyčinkou, které způsobí jen nepatrnou kompresi tkáně bez viditelného strukturálního poškození (36). Může být také použita lokální injekce či přímé podání na povrch mozku koncentrovaného kalia (draselný kationt,  $K^+$ ), podobně i glutamátu nebo jiné excitační aminokyseliny (37).

Stimulace příslušné korové arey vyvolá rozsáhlou místní depolarizaci neuronů, masivní přesun sodíkových kationtů ( $Na^+$ ) dovnitř a  $K^+$  ven z nervových buněk. Zvýšené přesuny kationtů depolarizují přilehlé neurony, z kterých se opět uvolňuje  $K^+$  do mezibuněčných prostorů a celý proces se začíná šířit jako elektrofyziologicky detekovatelná depolarizace rychlostí asi 3 mm/min do přilehlých oblastí mozkové kůry. Tato vlna je následována zastavením všech projevů elektrické aktivity a extracelulárně negativním pomalým potenciálem kolem 20-30 mV. V tkáni postižené šířící se depresí dosahuje koncentrace extracelulárního kalia na vrcholu negativního pomalého potenciálu 60 až 80 mmol/l proti normální koncentraci 4 -5 mmol/l (34).

Zvýšená koncentrace extracelulárního  $K^+$  je schopna vyvolat depolarizaci dalších neuronů jen v případě dostatečné hustoty membránových napěťově a ligandem řízených iontových kanálů. Ty pak reagují náhlým vzestupem permeability membrány a uvolněním dalších látek do extracelulárního prostoru (např. L-glutamátové kyseliny). Existují i další významné posuny iontů (pokles  $Na^+$ ,  $Cl^-$  a  $Ca^{2+}$ ) v extracelulárním prostoru (17). Leaova deprese se pomalu šíří a postihuje sousední přilehlé arey. Může se šířit také na opačnou hemisféru. V tom případě se objeví nejprve v krajině symetrické ke krajině stimulované a šíří se odtud do dalších oblastí odpovídajících primárně stimulované hemisféře. Je-li použita slabá stimulace k vyvolání šířící se depresí, nepřestoupí obvykle tato deprese na druhou stranu. Obnova původní spontánní aktivity je jen pomalá. Popsaná změna biopotenciálů není jediným evokovaným fenoménem

u Leovy deprese. Mohou jí být modifikovány i odpovědi na různé sensorické podněty (34).

Šířící se depresi lze vyvolat i v kortexu mozečku savců a ryb a dále na retině ryb, žab a ptáků. Retinální šíření deprese má v zásadě stejné vlastnosti jako u kortikální deprese. Šíří se všemi směry po retinálním povrchu, zatímco centrální oblast této kruhové arey se postupně navrácí do výchozího stavu. Toto zjištění může být zajímavé z pohledu patofyziologie retinální migrény (10).

U Leovy deprese jsou také popsány význačné změny krevního průtoku postiženou oblastí. Kortikální průtok na počátku krátce (1-2 min.) stoupá v důsledku místní vazodilatace až o 100%. Zdá se, že počáteční vzestup perfuze odpovídá reaktivní hyperemii. Po tomto vzestupu perfuze klesá o 20-30% pod bazální úroveň o celkovém trvání alespoň 90 minut. Autoregulace při změnách krevního tlaku (TK) přitom zůstává normální, ale je narušena reaktivita kortikálních krevních cév na změny parciálního tlaku oxidu uhličitého ( $pCO_2$ ). Tyto změny jsou analogické se změnami pozorovanými při studiích korové perfuze u migreniků s aurou (25).

#### **4.2.1.2 Poruchy korových oblastí u migrény**

Narušení perfuze vyskytující se při atace migrény bylo objeveno Lauritzenem a Olsenem při studiích cerebrálních vaskulárních dějů pomocí měření krevního průtoku metodou jednofotonové emisní počítačové tomografie (SPECT) jako doplňku k cerebrální angiografii. U některých pacientů se během angiografie a následného zkoumání mozkového průtoku krve (CBF) vyvinula ataka migrény s aurou s ložiskovými neurologickými deficity, bolestí hlavy, nauzou a zvracením. Cerebrální angiografie je sama o sobě známým provokačním faktorem migrény. Angiografie u těchto pacientů vyloučila možné příčiny ložiskové symptomatologie jako jsou mozkové cévní malformace, okluze nebo stenózy. Opakovanými měřeními bylo zjištěno, že u indukovaných atak klasické migrény s aurou se vyvinula hypoperfuze začínající vždy v zadní části mozku. Ta se postupně šířila dopředu vlnovitým způsobem nezávisle na zásobování velkými mozkovými cévami. Tento fenomén byl nazván „spreading hypoperfusin“ neboli šířící se hypoperfuze. U některých pacientů tato hypoperfuze nakonec postihla celou hemisféru, u jiných zůstala omezena na

okcipitální oblast. Snížený regionální mozkový krevní průtok (rCBF) přetrvával až do bolestivé fáze migrény. Rychlost šíření hypoperfuze byla pomocí měření v krátkých časových intervalech vypočtena na 2 – 3 mm/min (25).

Jak samotné studie Lauritzenova a Olsena (34, 35), tak i pozdější výzkum na jiných pracovištích potvrdil fenomen šířící se hypoperfuze pouze u pacientů trpících migrénou s aurou. U migrény bez aury byly metodou SPECT zaznamenány buď žádné, nebo nesignifikantní změny rCBF. Pomocí pozitronové emisní tomografie (PET) však bylo prokázáno, že regionální metabolický cerebrální obrat glukózy (RCMO Glu) v časném stádiu ataky a ve fázi bolesti v postižených oblastech klesá o 20 – 30 % a to jak u pacientů s aurou, tak bez aury. Má se za to, že u migrén bez aury se vlna šířící se hypoperfuze vyskytuje také, ale většinou nedosahuje nutného prahu pro potvrzení signifikantního deficitu (10, 46).

Byl tak nastolen problém posouzení kvantitativního hlediska kortikálního průtoku během hypoperfuze a především pak otázka možné ischemizace nervové tkáně v odpovídajících oblastech hypoperfuze během migrenózních atak. Studie pomocí SPECT připouštějí, že u atak migrény s aurou může být v oblastech hypoperfuze dosažena hodnota poklesu rCBF těsně nad 23 ml na 100 g/min, takže krevní průtok ještě zůstává nad ischemickým prahem a životaschopnost buněk je zachována. Avšak přibližně stejný pokles kortikálního krevního průtoku může být již dostatečný pro manifestaci různých neurologických příznaků. Důležitý je v tomto ohledu i časový faktor (35, 47) .

Při duševní činnosti, mluvení nebo pohybu ruky za normálního stavu zajistí metabolická autoregulace v odpovídajících kortikálních oblastech vzestup CBF. Tento mechanismus však nefunguje, když jsou tyto korové oblasti postiženy šířící se hypoperfuzí. Případné výkyvy TK mohou navíc vést ke změnám  $p\text{CO}_2$  (48).

Studie migrény s aurou pomocí SPECT a migrény bez aury pomocí PET tedy potvrzují, že při atace migrény se vyvíjí šířící se hypoperfuze (spreading oligemia) začínající okcipitálně a postupující po mozkové kůře dopředu rychlostí 2-3 mm/min, s normální autoregulací při změně systémového TK, ale porušenou odpovědí na změny  $p\text{CO}_2$  . Tato šířící se hypoperfuze se šíří nezávisle na zásobování tkáně mozku velkými cerebrálními artériemi (26).

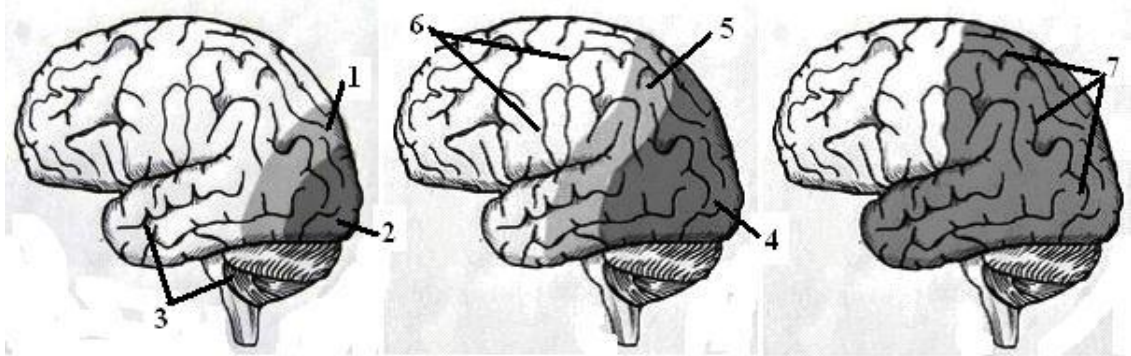
V období mezi atakami (remise) nebyly u žádného z obou typů migrén na SPECT pozorovány signifikantní změny (24).

#### **4.2.1.3 Změny na počátku poruchy**

Jak již bylo řečeno, na čele vlny Leovy šířící se deprese dochází k depolarizaci neuronů. Na začátku deprese stoupá kortikální krevní průtok přibližně o 100% na 1-2 min. ve 2-3 mm širokém pásu jako následek piální vazodilatace. Teprve za tímto vzestupem CBF klesá a vyvíjí se oligemie. Tento jev poprvé umožnily blíže pozorovat studie provedené pomocí magnetické rezonance (MRI) (71).

Funkční MRI umožňuje sledovat obsah kyslíku v krvi. Například při pohybu prstu je aktivována příslušná část motorické kůry, neurony se zde aktivují a v důsledku toho dochází k místnímu vzestupu oxygenace krve a snad i extracelulárního prostoru v reakci na zvýšené metabolické potřeby. Metabolický obrat vysokoenergetických fosfátů a spotřeba kyslíku jsou zvýšeny, aby mohlo dojít k repolarizaci nervových buněk a následnému obnovení klidového membránového potenciálu (71).

Bylo zjištěno, že k obdobnému efektu dochází i při změnách na čele průvodní korové reakce během migrény. Znamky hyperoxygenace byly zaznamenány jako pomalu a souvisle se propagující vlna, postupující rychlostí 3 až 6 mm/min (6). To koreluje s počátečním vzestupem rCBF na čele Leovy šířící se deprese. Reflexně dochází k dilataci odporových cév, k místní vazodilataci a k relativní hyperoxii, to celé trvá asi 5 minut. Poté nastupuje oligemická fáze (6). Měření oxygenace během již plně rozvinuté hypoperfuze nezjistilo žádné změny typické pro hypoxii. To naznačuje, že snížený průtok krve nemá ischemické následky a to zřejmě proto, že neurony jsou v tomto období nefunkční a mají tak snížené nároky na spotřebu kyslíku (viz. zastavení všech projevů elektrické aktivity u Leovy deprese) (25). Měření však poukázala v této souvislosti na další fakt. Ještě než se na čele vlny projeví známky hyperoxidace, bylo možno zachytit velmi krátkou dobu deoxidace. Pravděpodobně to odráží situaci, kdy se už neurony sice aktivují depolarizací, ale ještě nedošlo k adekvátní reakci cév na jejich zvýšené metabolické potřeby (70).



Obr. 6: Rozvoj korové šířící se deprese  
převzato z Kotas, Ambler, Souček (25)

šedá – oblast depolarizace nervových buněk

černá – oblast sníženého krevního průtoku

- (č. 1) - Na počátku ataky migrény s aurou je na okcipitálním pólu vyvolána korová šířící se deprese. Ta postupuje dopředu na laterální, mediální a ventrální straně povrchu mozku. Na předním okraji vlny korové deprese spustí tranzitorní porucha iontové a metabolické rovnováhy depolarizaci nervových buněk, nastávají změny krevního průtoku a objevují se ložiskové symptomy.
- (č.2) - Vlivem korové deprese klesne korový krevní průtok o 20-30%.
- (č.3) - Krevní průtok nepostižených oblastí zůstává naprosto normální (40)
- (č.4) - Oblast sníženého krevního průtoku se postupně šíří tak, jak se korová deprese pohybuje dopředu.
- (č.5) - Příznaky na končetinách se objeví tehdy, když korová deprese dosáhne sensorického kortexu (parietální lalok, gyrus postcentralis).
- (č.6) - Korová šířící se deprese se nejčastěji zastaví u centrální rýhy, často jí však ani nedosáhne. Korová šířící se deprese se šíří vertikálně a když dosáhne vláken citlivých na bolest, způsobuje vlastní bolest hlavy.
- (č.7) - Znázornění plně rozvinuté ataky. Korová deprese se přestala dále šířit a je viditelná jako přetrvávající snížení korového krevního průtoku. V této době pacient obvykle trpí bolestí hlavy.



#### 4.2.1.4 Kmenové migrenózní centrum

Popsané poruchy korových oblastí jsou spojeny s tzv. Talaraichovým prostorem, kde je lokalizován noradrenergní locus coeruleus a serotoninergní nucleus raphe dorsalis. K tomuto závěru dospěla pozorování na základě studia CBF pomocí PET (40, 72).

Locus coeruleus je pigmentové jádro, jehož neurony inervují longitudinální osu počínaje předním mozkem, přes mozkový kmen až po míchu. Má významné projekce i do okcipitálního laloku a jeho vlákna inervují (což je z našeho hlediska podstatné) také intraparenchymové drobné cévy. Tato intraparenchymová inervace je převážně ipsilaterální. Zvýšená činnost noradrenergních neuronů může způsobit pomalé potenciálové posuny v okcipitálním kortexu, posuny v extracelulární koncentraci kalia a proto i zahájení šířící se depolarizace neuronů s vývojem korové šířící se deprese spontánní EEG aktivity (24).

Aktivace kmenového migrenózního centra zjištěná při studiích s PET je v souladu s neurogenní koncepcí migrény. Aktivátory migrény, jakými mohou být stres, emoce nebo intenzivní zevní podněty, jsou schopny aktivovat dráhu z orbitofrontální oblasti do mozkového kmene či přímo prostřednictvím hypotalamu ovlivnit aktivitu locus coeruleus a nuclei raphe (26).

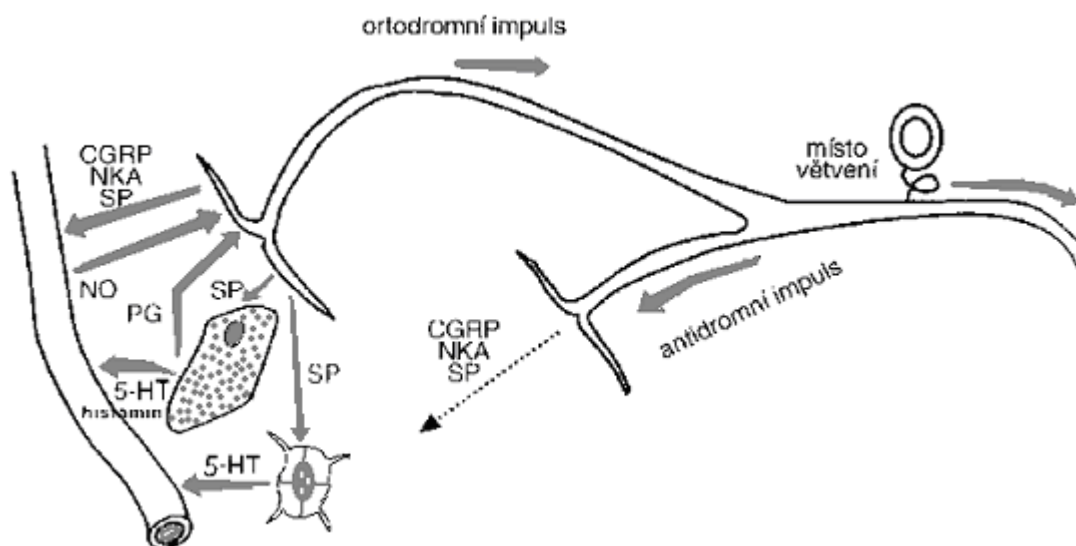
#### 4.2.2 Trigemiovaskulární systém

Již na počátku formování zásadních teorií patofyziologie migrény (zejména Herold G. Wolff, 1952) (25) byl mimořádný význam zdroje bolesti u ataky migrény připisován cévnímu systému. Navíc sekundární bolesti hlavy při cévních onemocněních, jako jsou temporální arthritida, bolest hlavy při akcelerované arteriální hypertenzi apod., na cévní původ bolesti hlavy poukazovaly. Také určité pozitivní účinky ergotoninu (periferní vazokonstriktor) při pokusech o léčbu záchvatu migrény poukazovaly na to, že minimálně určitý stupeň vazodilatace je u migrenózní bolesti přítomný (25).

Komplex tzv. trigeminovaskulárního systému se u migrény uplatňuje zejména ve vlastní fázi bolesti. Zdrojem vaskulární bolesti u atak je s největší pravděpodobností sterilní zánět a aktivace bolestivých (algických) vláken tzv. trigeminovaskulárního systému (komplexu). Aferentní trigeminová vlákna

přenášejí při depolarizaci nociceptivní signály do CNS. N. trigeminus však má i funkci eferentní. Trigemiovaskulární systém tvoří převážně nemyelizovaná C-vlákna inervující supratentoriální kortikální, meningeální a velké cerebrální artérie tvořící Willisův kruh a jejich větve. Nervová vlákna vytvářejí ve stěně těchto cév adventiciální plexus a buněčná těla těchto neuronů jsou převážně v oftalmické větvi trigeminového ganglia. Densita senzitivních axonů je největší podél proximálních větví Willisova kruhu a zmenšuje se nad konvexitami hemisfér. Inervace je zde převážně ipsilaterální s výjimkou cév ve střední čáře, které mají i významnou kontralaterální inervaci. Každá gangliová buňka vydává divergentní kolaterály, které inervují více velkých intrakraniálních cév zásobujících jak mozkový parenchym, piální a arachnoidální struktury, tak duru mater. Toto anatomické uspořádání by mohlo odpovídat za převážně unilaterální lokalizaci bolesti hlavy u migrény (25, 41).

Nociceptivní vzruchy ze stimulovaných zakončení nervových perivaskulárních vláken trigeminovaskulárního systému se propagují ortodromně směrem do gasserského ganglia a odtud dále do vyšších etází CNS. Pokud ovšem vzruch dosáhne místa axonálního větvení, začne se současně propagovat také antidromně do další axonální větve. Jev se označuje jako axonální reflex a vede k propagaci vzruchů na další periferní nociceptivní zakončení intrakraniálních cév (41). Jejich perivaskulární nervová zakončení obsahují několik vazoaktivních neurotransmiterů, jako je substance P (SP), neurokinin A (NKA) a calcium gene-related peptide (CGRP). Uvolňují se do stěny cév při depolarizaci aferentních nociceptivních vláken a vedou k zvýšení permeability cévní stěny s extravazací plazmatických proteinů, k degranulaci mastocytů a k zvýšené agregaci trombocytů. Výsledkem je vzestup serotoninu (5-HT), histaminu, NO a dalších látek, dochází k vazodilataci a vzniku sterilního zánětu v cévní stěně. Tím se udržuje bolestivá aferentace (23).



Obr. 7: Vznik sterilního perivaskulárního zánětu aktivací trigeminovaskulárního systému (25).

CGRP – calcium gene-related peptide

NKA – neurokinin A

SP – substance P

PG – prostaglandiny

5-HT – serotonin

NO – oxid dusnatý

Základní role jednotlivých působků při rozvoji a udržování bolesti je následující. SP uvolněná z aktivovaného trigeminového zakončení navodí spolu s NKA zvýšenou permeabilitu cévní stěny s extravazací proteinů. SP kromě toho zapříčiňuje zvýšenou agregaci a degranulaci krevních destiček a degranulaci mastocytů. Z krevních destiček je při agregaci a degranulaci uvolňován 5-HT. Z mastocytů je vlivem SP také uvolňován 5-HT, mimo to i histamin a prostaglandiny (PG) (23, 25, 26).

PG uvolněné z mastocytů snižují prah podráždění trigeminových zakončení a senzibilují je. 5-HT, histamin a SP mají v endotelu cév své specifické membránové receptory (5-HT receptory 5-HT<sub>2B</sub> nebo 5-HT<sub>2C</sub>, histaminový H<sub>1</sub> receptor). Takto aktivované receptory zapříčiní vzestup intracelulárního Ca<sup>2+</sup> a následnou syntézu NO. Vzestup NO v endotelových buňkách vede

k vazodilataci. Vazodilataci posiluje i CGRP uvolněný z nociceptivních zakončení přímým vazodilatačním působením na hladkou svalovinu cév. Začne se rozvíjet sterilní perivaskulární zánět. NO se svým prozánětlivým působením významně podílí na rozvoji sterilního perivaskulárního zánětu. V nadměrném množství může vést až k buněčné smrti. NO je ale také schopen zpětně aktivovat senzitivní nociceptivní nervová zakončení a vede k dalšímu uvolňování peptidů (např. CGRP). Tím vzniká bludný kruh prohlubující celý proces (26, 41).

Předchozí hypotéza je podpořena pozorováním efektu trigeminové stimulace u zvířat a u lidí. Elektrická stimulace ganglia trigeminu u laboratorního potkana např. vyvolala neurogenní extravazaci plazmy. Kromě extravazace plazmatického proteinu byly při stimulaci trigeminového ganglia zjištěny strukturální změny v dura mater spočívající v degranulaci mastocytů a destičkové agregace. Elektrická stimulace trigeminového ganglia u kočky i člověka vede k lokálnímu uvolnění CGRP, SP. a následné zvýšené syntéze NO (67).

Rovněž spoluúčast 5-HT při vzniku a udržování migrenózního záchvatu byla opakovaně experimentálně prokázána. 5-HT je dlouhou dobu dokonce považován za jeden z hlavních humorálních faktorů migrény. Na význam 5-HT poukazuje např. zvýšení hodnoty 5-hydroxindolové kyseliny (5-HIAA) v moči u pacientů s atakou migrény. 5-HIAA je hlavní metabolit 5-HT (26). Řada studií rovněž prokázala spojitost destičkami produkovaného 5-HT a zvýšení syntézy NO. 5-HT receptory mají více podtypů, podle současných názorů hrají důležitou roli v bolestivé fázi onemocnění zejména podtypy 5-HT<sub>2B</sub> a 5-HT<sub>2C</sub>. Jsou přítomny v endotelových buňkách krevních cév a pokud je jejich aktivace při atace migrény blokována (např. methysergidem či pizotifenem), dojde ke snížení syntézy NO. Afinita 5-HT k jednotlivým podtypům je závislá rovněž na koncentraci. Jen v určité koncentraci 5-HT způsobuje aktivaci 5-HT<sub>2B</sub> a 5-HT<sub>2C</sub> a následnou vazodilataci (49, 60).

Vliv histaminu byl prokázán ve studii s pacienty trpícími migrénou, kterým byl histamin podán infuzí. Část z nich byla předléčena mepyraminem (blokátor H<sub>1</sub> receptorů), část dostala placebo. U pacientů, kteří byli předléčeni placebem, vyvolala infuze s histaminem ataku migrény bez aury s vrcholem intenzity

bolesti za 5 hod. po infuzi. Časový profil je podobný jako u záchvatů indukovaných nitroglycerinem, což ukazuje na podobný mechanismus účinku (1, 32, 33).

#### 4.2.3 Aktivace trigeminovaskulárního systému

Aktivace patofyziologických procesů trigeminovaskulárního systému je přisuzována vzestupu extracelulární koncentrace  $K^+$  provázející postupující vlnu migrénozní poruchy korových oblastí. Koncentrace  $K^+$  v těchto oblastech stoupá na 60 mmol/l a je dostatečně velká, aby byla schopna depolarizovat trigeminová nervová vlákna obklopující piální arterie. Tímto způsobem tedy přechází fáze iniciálních poruch korových oblastí u migrény (s aurou i bez aury) do bolestivé fáze patologických procesů trigeminovaskulárního systému (23, 26).

Potvrzení, že primární příčinou aktivace patofyziologických procesů trigeminovaskulárního systému jsou patofyziologické děje šířící se hypoperfuze korových oblastí skýtají pokusy sledující expresi c-fos antigenu. C-fos antigen je markerem funkční aktivace nervového systému a uvolňuje se zejména během přetrvávajícího škodlivého působení určité patologie. Experimentálně bylo prokázáno, že Leaova korová šířící se deprese vede ke zvýšené expresi c-fos antigenu na nervových buňkách v trigeminovaskulárním prostoru. Bylo také prokázáno, že po přetěti trigeminových vláken k expresi c-fos antigenu nedošlo (25).

Centrální výběžky trigeminovaskulárních neuronů gasserského ganglia projikují do ncl. caudalis V. hlavového nervu a zajišťují přenos nociceptivní informace do vyšších etáží CNS (67).

#### 4.2.4 Role NO při atace migrény

Nepřímým důkazem o významu NO při rozvoji bolesti migrenózního záchvatu je klinická zkušenost vyšší náchylnosti migreniků k bolestem hlavy po podání nitroglycerinu (donor NO) v porovnání s nemigreniky. Přímé použití NO v klinických studiích je obtížné pro jeho krátký biologický poločas a naopak potenciální toxicitu při přívodu nadměrného množství. Přesto studie, při které se

podával nitroglycerin infuzně migrenikům a kontrolním jedincům migrénou netrpícím, rozdílnou reaktivitu potvrdila. Pokud se u nemigreniků vyvinula bolest hlavy, tak nesplňovala kritéria pro migrénu bez aury, u migreniků byla bolest jednak intenzivnější, jednak s charakteristickými znaky pro ataku migrény (65). Dále bylo experimentálně prokázáno, že zvýšená tvorba NO může být vyvolána Leavou korovou šířící se depresí a aktivací trigeminovaskulárního systému (31).

Rodina tří enzymů katalyzujících syntézu NO, známá jako NOS, byla zjištěna v mnoha tkáních, kromě jiného v endotelu cév, cévní hladké svaloviny, nervové tkáni a v destičkách. Rozhodující roli hrají eNOS a nNOS. Aktivitu eNOS a nNOS zvyšuje stimulace některými humorálními faktory působícími na specifické membránové receptory, např. 5-HT (na 5-HT<sub>2B</sub> nebo 5-HT<sub>2C</sub> receptor), histamin (histaminový H<sub>1</sub> receptor), bradykin (B<sub>2</sub> kininový receptor), glutamát (NMDA receptor), SP, acetylcholin (muskarinový M<sub>1</sub> nebo M<sub>3</sub> receptor), endothelin-1 (ET 1 b receptor) a snad i CGRP. Rovněž zvýšená rychlost krevního toku a následně zvýšený „shear stress“ v endotelových buňkách může stimulovat eNOS. Aktivita nNOS je dávana do souvislosti především s NMDA receptorem. Zde je nutno připomenout, že NOS nejsou orgánově specifické jak se původně předpokládalo. Například v endotelu byla prokázána jak eNOS tak nNOS. Obdobně tomu je i v neuronech (30, 24).

V endotelu je NOS je bezprostředně stimulována vzestupem intracelulárního Ca<sup>2+</sup> v důsledku stimulace uvedených receptorů nebo „shear stresem“. NO difunduje přes buněčné membrány do myocytů, kde se naváže na hemové železo přítomné v membránově vázané solubilní guanylátcyklázy (sGC) a tím dochází k její aktivaci. Aktivovaná sGC katalyzuje přeměnu guanosintrifosfátu (GTP) na 3',5'-cyklický guanosinmonofosfát (cGMP). CGMP aktivuje protein-kinázu G (PKG). Vazodilatace aktivovaná PKG je obecně zprostředkována fosforylací cílových proteinů různými kinázami (18, 15). Výsledkem je defosforylace lehkých myozinových řetězců a navození stavu relaxace. V současnosti bylo popsáno několik mechanismů, jimiž může cGMP působit relaxaci, jejich skutečný podíl na vazodilataci *in vivo* většinou není úplně jasný (30, 59).

Kromě hlavní signální vazodilatační dráhy zprostředkované cGMP, byla

popsána alternativní cesta obcházející cGMP, ale opět závislá na NO. Vazodilatace na NO závislá a na cGMP nezávislá je přičítána aktivaci draslíkových iontových kanálů prostřednictvím NO. Otevřením K<sup>+</sup> kanálů dochází ke snížení cytozolového Ca<sup>2+</sup> a k vazodilataci. NO také inhibuje enzym cytochrom P450A, který je zodpovědný za produkci 20-hydroxyarachidonové kyseliny v buňkách hladkého svalstva (30).

Neuronová aktivita cNOS je v CNS spojována především s receptorem NMDA. Na excitačních synapsích glutamátového typu se glutamát uvolňuje z presynaptického zakončení, otevírá iontový kanál NMDA receptoru, kterým prochází do cytozolu buňky spolu s Na<sup>+</sup> i Ca<sup>2+</sup>. Ca<sup>2+</sup> se v neuronu váže na kalmodulin a tento komplex stimuluje cNOS (zejména nNOS, 18). Tvoří se NO, který jednak postupně vede k fosforylaci cytozolových bílkovin ve vlastním neuronu, ale také může difundovat přes synapse do nervového presynaptického zakončení, kde aktivuje cytozolovou GC (cGC), iniciuje tvorbu cGMP a cGMP- dependentní zvýšení výlevu glutamátu, což dále vede k vtoku Ca<sup>2+</sup> do postsynaptického neuronu. NO také pravděpodobně působí na zvýšení výlevu neuropřenašeče nejen prostřednictvím GC, ale i přes ADP-ribosyltransferázu (45). Syntáza nNOS má navíc na NMDA receptor zpětovazební stimulační smyčku, takže je schopna svou aktivitu modulovat. Opakování celého předchozího cyklu v případě fyziologických regulací např. posiluje synaptický kontakt. V patologických situacích může ale dojít k nadměrnému výlevu glutamátu a ten se pak stává cytotoxickým. Možnost patofyziologické role NO a NMDA receptorů je často diskutována v souvislosti s Leaovou depresí. Zvýšená přítomnost NO u ní byla prokázána (51).

Dalším průvodním jevem čelní vlny Leaovy deprese je abnormální intracelulární spotřeba adenosintrifosfátu (ATP) zejména pro uspokojení metabolických potřeb ATPasové pumpy. ATP je produkt aerobní respirace buňky tj. oxidativní fosforylace v mitochondriích. Je prokázáno, že NO se na inhibici mitochondriální tvorby může podílet buď přímo, nebo v součinnosti s dalšími jím tvořenými metabolity. Mohl by proto mít částečný podíl na ATP deficitu (69).

Wahl a kol. (67) se zaměřili ve své studii na otázku, zda je dilatace v počáteční fázi Leaovy deprese zprostředkována uvolněním CGRP a/ nebo

NO. Došli k závěru, že na dilataci počáteční v fázi Leaovy deprese se podílí jak CGRP, tak NO.

Zajímavý výsledek přinesla studie Wanga a kol. (56), kteří se zaměřili na konečnou fázi hypoperfuzní korové deprese u migreniků s aurou a sledovali podíl NO na obnovení původní předzáchvatové homeostázy. U stejných pacientů byla provedena měření CBF před podáním a po podání N<sup>omega</sup>-nitro-L-arginin metylesteru (L-NAME). L-NAME je analog L-argininu a působí jako kompetitivní inhibitor NOS. Studie ukázaly, že inhibice tvorby NO zpozdí pozdější buněčnou homeostázu. To by tedy mohlo naznačovat, že zatímco v počátečních fázích zvýšená hladina NO působí patofyziologicky, tak v konečné fázi může mít NO vliv pozitivní (56).

Ve studii zaměřené na vyšetřování destičkových abnormalit za účelem potvrzení hypotézy, že tyto abnormality mají úlohu v patogenezi migrény, byli zahrnuti migrenici s aurou a bez aury. Ve studii byla sledována celková koncentrace nitritů a nitrátů (ukazatel extracelulární produkce NO) a hladina cGMP v destičkách pacientů (ukazatel intracelulární produkce NO). Výsledkem studie bylo zjištění, že u migreniků byly během záchvatu nalezeny vysoké koncentrace destičkového NO a také vysoké hodnoty celkového dusíku (nitrity, nitráty). Tyto hodnoty signifikantně poklesly v období klidu mimo záchvat. Potvrzuje to významnou spoluúčast destiček a destičkového NO v patogenezi migrény s aurou i bez aury (62).

Někdy jsou určité pochybnosti o nezbytnosti vazodilatace pro vznik bolesti. Moskowitz (26) dokázal, že NO aktivuje senzitivní trigeminová vlákna k uvolnění CGRP a toto uvolnění působí bolest i vazodilataci aktivací GC v hladké svalovině.

Někteří autoři uvádějí, že histamin a glyceryl-tri-nitrát způsobují vlastní bolest hlavy. Glyceryltrinitrát působí prostřednictvím NO a potvrzuje jeho význam v etiopatogenezi migrény (25).

S vysokou pravděpodobností existuje kauzální vztah mezi 5-HT, dalšími humorálními faktory (SP, histamin, bradykinin) a NO při rozvoji perivaskulárního zánětu (26).

Velký význam účasti NO připisuje Thomsen (25). Předpokládá, že u migrény bez aury je iniciálním momentem stimulace uvolnění NO, které způsobuje



jednak vazodilataci, jednak senzibiluje perivaskulární senzitivní nervová vlákna trigeminovaskulárního systému. Za možné místo vzniku a rozvoje bolestí hlavy u migrény bez aury považuje velké intrakraniální artérie. Opírá se o vlastní studie metodou transkraniální Dopplerovy sonografie (TCD), protože dosud provedené studie s TCD u migreniků vykazaly značnou variabilitu. Zjistil sníženou rychlost průtoku v arteria cerebri media během jednostranného záchvatu bolesti hlavy u migrény bez aury na straně bolesti hlavy ve srovnání s druhou stranou. Protože podle studií SPECT byl rCBF během záchvatů bolestí hlavy u migrény bez aury nezměněn, vysvětluje toto snížení rychlosti vazodilatací (25).

Nálezy potvrzující vazodilataci byly rovněž získány ve studiích ve kterých bylo kombinováno vyšetření TCD a SPECT po podání nitroglycerinu sublinguálně a do 1 hodiny po infuzi během tzv. bezprostřední bolesti hlavy, obdobný výsledek byl zaznamenán i po infuzi histaminu (33).

Uvedené nálezy vedly některé autory k závěru, že dilatace velkých intrakraniálních arterií může mít vliv na rozvoj migrenózní bolesti. Velikost uváděné intrakraniální dilatace během spontánních atak (9%) je však příliš malá, aby byla sama o sobě příčinou bolestivé ataky. Navíc jestliže by byla vazodilatace vlastní příčinou bolesti, měla by být přítomna u všech vyšetřovaných pacientů, což není. Proto je rozhodující role při vzniku bolesti připisována právě nadprodukci NO, který společně s vazodilatací přispívá k senzitivizaci perivaskulárních senzitivních vláken trigeminovaskulárního systému (25).

Tento pohled otvírá možnost, že alespoň část záchvatů migrény, zejména bez aury, je způsobena přímým působením vyvolávajícího agens na endoteliální receptory aktivací NO-cGMP kaskády. To by mohlo mít v budoucnu praktický význam pro rozšíření léčebné strategie. Léky, které vstupují do interakce s NO (blokátory endoteliálních receptorů, inhibitory NOS, „zametače“ NO a inhibitory sGC), by mohly být efektivní v léčbě akutních záchvatů migrény nebo v profylaxi (31).

Tyto úvahy však mají svá úskalí. Například bezprostřední bolest hlavy po infuzi nitroglycerinem postrádá migrenózní charakter. Arteriální vazodilatace provázející bezprostřední bolest hlavy byla oboustranná, zatímco opožděné

ataky, které měly typické klinické známky migrenózního záchvatu a vyskytovaly se převážně pouze u migreniků, byly jednostranné. Studie prováděné s nitroglycerinem a histaminem nebyly dostatečně dlouhé, aby postihly opožděné ataky. Konečně studie PET i nejnovější studie s funkční MRI svědčí pro děj obdobný Leavově korové šířící se depresi i u záchvatů migrény bez aury, i když vzhledem k malému počtu vyšetření nelze říci, zda je přítomen u všech nebo jen u části postižených (25).

#### 4.2.5 Provokační faktory migrény

Provokačních faktorů je uváděn velký počet a jsou mezi ně zahrnuty faktory vnější i vnitřní. Častými provokačními faktory bývá např. nedostatek spánku, únava, špatné stravovací návyky (nepravidelnost v jídle), některé potraviny (zrající sýry, čokoláda, citrusy, smažená jídla, uzeniny, glutamát) nebo alkohol, blikavé světlo (TV, počítač) a v neposlední řadě i psychické podněty (stres, emoce, konflikty v rodině) (24, 43).

Najít vysvětlení jakým mechanismem může tak široká škála faktorů vyvolat záchvat migrény není jednoduché (26). Předpokládá se, že u migrény existuje genetická dispozice. U některých migreniků je tato biologická zvláštnost schopna sama vyvolat opakované záchvaty migrény bez zjevného spouštěcího faktoru. Řídí se určitým vnitřním rytmem bez identifikovatelného impulzu zvenčí. Tito migrenici popírají, že by spouštěcí faktory hrály nějakou roli při jejich záchvatech migrény. U většiny migreniků však spouštěcí faktory mají svůj význam při vyvolání záchvatu (25). Velký počet provokačních faktorů naznačuje, že buď existují podskupiny migreniků s různými genetickými dispozicemi, nebo existuje společný mechanismus který je aktivován širokou škálou faktorů (23). Je ovšem možné, že odlišné iniciální mechanismy působí na různých stupních etiopatogenetického procesu migrény (40). Výčet a popis předpokládaných mechanismů všech známých provokačních faktorů migrény přesahuje rámec této práce, v následujícím budou uvedeny jen vybrané provokační faktory s předpokládanou účastí NO.

#### **4.2.5.1 Velká nadmořská výška**

Bylo prokázáno, že u lidí žijících ve velké nadmořské výšce je výrazně vyšší výskyt migrény. Na vzniku se nejspíš podílí hypoxie způsobující vzestup NO. Hypoxie prodlužuje životnost NO, zatímco čistý kyslík (kterého je ve vysokých polohách nedostatek) funguje jako „zametač“ NO. Hypoxická cévní bolest a hypoxií indukovaná migréna tak mohou být způsobeny zvýšenou koncentrací NO. Některé studie ovšem v této souvislosti naopak prokazují, že výrazně vyšší výskyt bolesti hlavy ve velké nadmořské výšce byl zaznamenán spíše u nemigrénózní bolesti hlavy (měřeno v Peru cca 3800 m nad mořem) a prevalence migrénózní bolesti hlavy se zde fakticky neliší od prevalence na úrovni blízké hladině moře (25).

#### **4.2.5.2 Spánek**

Krátkodobý spánek vede u většiny migreniků k úlevě. Jeho nedostatek, ale i nadměrné množství může být u některých migreniků provokačním faktorem. Někteří pacienti se rovněž mohou budit v důsledku silné pulzující bolesti hlavy přímo z nočního spánku a to nejčastěji k ránu (25).

Farmakologické studie, které se zabývaly vlivem NO na spánkové procesy zjistily, že tento plyn hraje důležitou úlohu v pomalém NREM (non rapid eye movements), ale i rychlém, REM (rapid eye movements), spánku. Psychiatrický výzkum demonstroval zajímavý vztah mezi poruchami spánku a duševními chorobami. Předčasný nástup REM spánku a zvýšení jeho frekvence se zjistil hlavně u pacientů trpících depresí (45).

Studie zabývající se interakcemi NO s jinými neuromediátory ukázaly, že zvyšování hladiny NO pomocí jeho donorů, vede do jisté hranice k zvýšenému uvolňování acetylcholinu. Experimentálně bylo prokázáno, že REM i NREM spánek jsou komplexně regulované pomocí cholinergních, serotoninergních a adrenergických neuronů v mozkovém kmeni, přičemž cholinergní neurony v gigantocelulárním jádře jsou zodpovědné za spouštění a udržování REM spánku. Rieman a spol. (22) demonstrovali, že cholinergní stimulace vyvolává změny REM spánku, které se objevují u lidí trpících depresí. Vzhledem na souvislost mezi acetylcholinem a NO lze předpokládat, že NO spolupůsobí s acetylcholinem na nástup REM spánku.

Nedostatek, ale i nadbytek spánku může být i v důsledku poruchy denních rytmů na nichž se NO rovněž podílí. Tyto rytmy jsou řízeny suprachiasmatickým jádrem hypothalamu. Světlo synchronizuje naše rytmy s cca 24. hodinovou periodicitou. NO spolupůsobí s glutamátem na zakončeních buněk v nucleus suprachiasmaticus. Toto hypothalamické jádro mozku má schopnost tvořit NO, obsahuje NOS. Změnu v nastavení biologických hodin vyvolá noční osvětlení, glutamát, aktivace NMDA receptorů a následná tvorba NO, což způsobí v nucleus supraopticus hypothalamu fosforylaci "cAMP response element binding" (CREB) proteinu (57).

#### **4.2.5.3 Léky**

Mezi tuto skupinu provokačních faktorů s účastí NO zahrnujeme především nitroglycerin a nitrovazodilatátory podávané u anginy pectoris, vyvolávající u migreniků bolesti hlavy obdobné jako při migréně. Po infuzi nitroglycerinu se nejprve vyvine bezprostřední bolest hlavy připomínající migrénu bez aury. Tuto reakci lze pozorovat i u nemigreniků, ale silnější je u migreniků. Se zpožděním několika hodin se pak u migreniků vyvine genuinní ataka migrény.

Nitrovazodilatátory působí jako přímé donory NO. NO jak známo má vazodilatační a prozánětlivé účinky a podle dostupných údajů je zodpovědný za sterilní perivaskulární zánět u migrény (18, 22).

#### **4.2.5.4 Alkoholické nápoje**

Podle dosavadních studií si asi 20-50% migreniků myslí, že alkoholové nápoje u nich vyvolávají záchvat migrény. Největší pozornost byla věnována červenému vínu. Studie potvrdily, že červené víno uvolňuje z krevních destiček serotonin. Mechanismus, jakým by červené víno mohlo způsobovat bolest hlavy u migreniků, by mohl spočívat v přímé interakci s 5-HT<sub>2B/2C</sub> receptory. Stimulace těchto receptorů způsobuje podle všeho syntézu NO, vazodilataci a následný sterilní perivaskulární zánět. Rovněž se zjistilo, že červené víno obsahuje kromě serotoninu i vazodilatační substance, které působí prostřednictvím NO (25).

## 5. Další vybrané poruchy CNS s účastí NO

Nervový systém je zvláště náchylný ke vzniku degenerativních změn. Jednou z primárních příčin, vyvolávajících degeneraci neuronů, je oxidační stres. Ten je přímo spojen s nadprodukcí hyperreaktivních forem kyslíku a dusíku, sloučenin se značným fyziologickým ale i patologickým významem. V podmínkách nadměrné nadprodukce je NO neurotoxický. Riziko poškození mozku snižují inhibitory NOS, avšak nedostatek NO může opět vést sekundárně k poškození mozku, protože NO zastává i řadu fyziologických funkcí. Jak tedy nedostatek, tak i nadprodukce NO vede k postupnému odumírání neuronů v CNS (22).

### 5.1 Cerebrální ischemie

NO má významnou úlohu v patogenezi neuronálního poškození během cerebrální ischemie. Úloha NO v procesu ischemizace tkáně představuje složitý problém. Uplatňuje se tu jak protektivní tak i cytotoxický efekt. Zatímco zvýšená produkce NO působením nNOS aktivované NMDA receptory a iNOS aktivované cytokiny působí cytotoxicky, zvýšená aktivita eNOS může svojí produkcí NO pozitivně ovlivnit průtok krve mozkiem a zabraňovat nervovému poškození (12).

### 5.2 Alzheimerova choroba

Jedním z nejčastějších klinických projevů neurodegenerace je Alzheimerova choroba. Jejím hlavním morfologickým projevem je ukládání  $\beta$ -amyloidů, nerozpustných proteinů, tvořících hlavní složku senilních plaků a indukujících apoptózu v neuronech. Reaktivní aktivace gliových buněk vede k produkci cytokinů, hyperreaktivních forem kyslíku a dusíku. Ve tkáních se hromadí konečné produkty pokročilé glykace. Jednou z možných příčin neurodegenerace je interakce  $\beta$ -amyloidního prekurzoru s NMDA receptorem, stimulačím excitotoxický účinek glutamátu a aktivujícím nNOS s následnou intenzivní tvorbou NO, superoxidu a jiných reaktivních forem kyslíku a dusíku (23).

### 5.3 Parkinsonova choroba

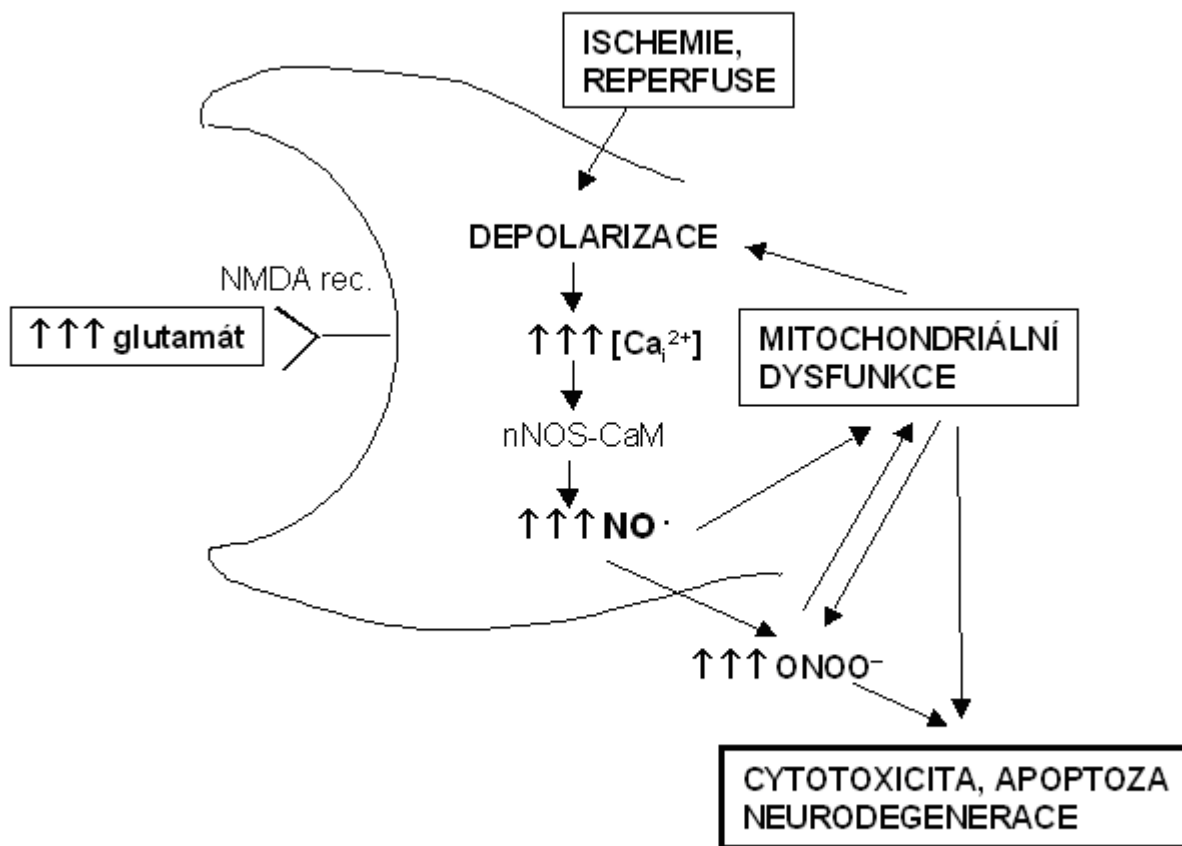
Bylo prokázáno, že u parkinsoniků dochází k indukci produkce NO v gliových buňkách substantia nigra. Zvýšená koncentrace NO v substantia nigra se pravděpodobně podílí na úbytku dopaminerních neuronů (8).

### 5.4 Roztroušená skleróza

Indukce iNOS v demyelinizovaných oblastech mozku byla popsána u pacientů se sclerosis multiplex. Byl také zjištěn přímý toxický vliv NO na oligodendroglie produkující myelin. V aktivních mozkových lézích byla prokázána silná iNOS pozitivita v perivaskulárních a v parenchymových makrofázích v oblastech aktivní demyelinizace. Tyto makrofágy obsahovaly i eNOS a in vitro produkovaly NO. Uvnitř chronických lézí byly slabě iNOS pozitivní makrofágy. Makrofágy tedy mohou nadměrnou produkcí NO působit cytotoxicky na oligodendroglie a ničit myelin v mozku a míše. V séru pacientů s roztroušenou sklerózou byly nalezeny zvýšené hladiny nitrátů a nitritů (metabolity NO). Stejně nálezy byly u získaných syndromů imunodeficiency a u zánětlivých neurologických onemocnění (8).

### 5.5 Schizofrenie

Podle neurovývojové hypotézy je schizofrenie klinickým vyjádřením narušené „konektivity“ nervových buněk při vývoji centrálního nervového systému. Dochází tak k poněkud odchýlnému umístění jednotlivých neuronálních populací v anatomicky definovaných částech mozku. Pozitivní úloha určité hladiny NO v procesech morfogeneze CNS se nedá opominout. Zvýšená aktivita NOS se přechodně objevuje v ohraničených oblastech vyvíjejícího se mozku. Může tak ovlivňovat na aktivitě závislou tvorbu synapsí, řízenou apoptózu a tvorbu tzv. koridorů pro rostoucí axony. NO tak má aktivně podíl v časných stádiích buněčné diferenciaci. Nedostatečná produkce NO vede k odchýlkám v diferenciaci buněk, nadprodukce NO k jejich destrukci (31).



obr. 8: nNOS a patologická nadprodukce NO

převzato z Kalina (16)

Nadměrná stimulace NMDA receptorů glutamátem nebo depolarizace způsobí vzestup cytozolové koncentrace  $Ca^{+2}$  a zvýšení koncentrace NO. Vzniklá produkce radikálů vede jednak k mitochondriální dysfunkci, ale také cytotoxicitě, apoptoze a neurodegeneraci. Dysfunkce mitochondrií se projevuje nedostatečnou tvorbou ATP a s tím spojenými dalšími důsledky.

## 6. Závěry pro zdravotnickou praxi

Jedním z faktorů, které limitují tvorbu NO, je dostupnost L-argininu, proto se v současné době zaměřuje řada výzkumů na vývoj selektivních inhibitorů NOS, čímž se zabrání nadměrné produkci NO. Mezi tzv. kompetitivní inhibitory NOS řadíme řadu látek odvozených od L-argininu. Tyto látky obsahují většinou aminové, alkoholové a karboxylové skupiny. Mezi nejčastěji používané inhibitory NOS řadíme N<sup>G</sup>-monometyl-L-arginin (L-NMMA), N<sup>omega</sup>-nitro-L-arginin (L-NA) a N<sup>omega</sup>-nitro-L-arginin metylester (L-NAME). Tyto látky mají podobnou strukturu jako L-arginin, proto se snadno naváží do aktivního centra na NOS a zabrání tak navázání L-argininu (13, 19).

Velmi nadějnou oblastí na kterou se v současné době zaměřuje řada výzkumů je vývoj neuroprotektivních léčiv. Tyto preparáty jsou zaměřeny na látky inhibující neurotransmisi zprostředkovanou excitačními aminokyselinami, jenž se váží na NMDA receptory. Zprostředkovávají rychlý synaptický přenos na většině excitačních synapsí v centrální nervové soustavě. Vazbou kys. glutamové na NMDA receptory dochází k otevření iontových kanálů a depolarizaci postsynaptické membrány. Tím nastává zvýšení intracelulární koncentrace Ca<sup>2+</sup> na hranici potřebnou pro aktivaci Ca<sup>2+</sup> sensitivních enzymů a metabolických cest. Nadměrná aktivace NMDA receptorů vede k patologickým procesům, které mohou vyústit až ve specifickou formu smrti neuronů (excitotoxicita). Existují experimentální důkazy o tom, že se excitotoxicita podílí na vzniku celé řady neurodegenerativních onemocnění a že antagonisté NMDA receptorů mohou představovat terapeutický potenciál pro léčbu těchto onemocnění. Mezi neselektivní antagonisty NMDA receptorů patří např. memantin. Memantin je tricyklický primární amin (dimethyl-derivát amantadinu), jehož neuroprotektivní účinek spočívá v ochraně NMDA-receptorů před nadbytkem nakumulované excitační aminokyseliny glutamátu tím, že se sám váže na tento receptor (58, 59).



Domnívám se, že potenciálním problémem v přístupu k léčbě poruch CNS aplikací selektivních kompetitivních inhibitorů na bázi strukturních modifikací L-argininu (substrátu NOS) je účast NO ve velmi širokém spektru nejen patofyziologických, ale i fyziologických funkcí. Tyto inhibitory totiž nepůsobí cíleně na NOS pouze v potřebných buněčných strukturách, ale mají systémový účinek inhibice NO v rámci celé CNS. Tím sice dochází k potlačení negativních účinků NO v patofyziologické oblasti mozku, ale zároveň mohou být tlumeny i potřebné fyziologické funkce (vliv na denní rytmy, výdej hormonů v hypothalamo-hypofyzární ose, kvalita paměti LTP i LTD, NREM i REM, vazodilatace apod.). Tím by podle mého názoru mohl za určitých okolností nastat stav, kdy pozitivní léčba jedné patologické situace může paradoxně paralelně navodit indukci jiných nežádoucích stavů. Proto je podle mého názoru vhodné tyto preparáty používat z dlouhodobého hlediska pouze pro léčbu jen závažných chorob a akutních stavů, kdy není k dispozici jiná adekvátní léčba. Navíc nemusí být efekt účinků selektivních kompetitivních inhibitorů vždy jednoznačný. Některé studie v poslední době totiž prokazují, že např. L-NMMA může být metabolizován na L-citrulin a ten následně na L-arginin. Zvýšení hladiny L-argininu (jakožto substrátu pro NOS), tak může paradoxně navodit zvýšení produkce NO a tím způsobit opačný efekt než byl původní záměr.

V tomto směru se z mého pohledu jeví cílenější použití neselektivních inhibitorů NMDA receptorů v neuronech. Jejich účinky rovněž mohou mít negativní dopady spojené s narušením fyziologie neuronů, ale ve značné míře může být zachována správná funkce cévní soustavy CNS a tím přisun potřebných působků (např. živin, kyslíku, hormonů).

Potřebný neuroprotektivní lék zasahující do metabolismu NO, který by působil v dostatečně dlouhém terapeutickém okně, známým mechanismem účinků, s jednoznačně přesvědčivými výsledky klinických studií s efektem na všechny hlavní i vedlejší cílové parametry a bez vedlejších účinků v současnosti neexistuje. Podle mého názoru je reálné očekávat v blízké době u některých chorob vývin nových účinných preparátů. Ty budou zřejmě splňovat výše uvedené požadavky, až na kritérium nepřítomnosti vedlejších účinků.

Vzhledem k rozsahu působnosti NO v CNS se mi jeví téměř nemožné docílit ovlivnění hladiny NO jen v cíleně lokalizované oblasti.

## 7. Závěr

Mimořádný význam působnosti NO je v rámci celého organismu nejmarkantnější v CNS, kde jsou registrovány jeho největší aktivity. Zásadním způsobem se zde podílí nejen na základních fyziologických pochodech (již od prenatálního období), ale může se zde podílet i na patologických situacích, jejichž důsledkem jsou pak četné progresivní choroby.

CNS je vysoce propracovaným biologickým systémem velmi citlivým na jakékoli negativní podněty. V souvislosti s NO je známo, že jeho lokální produkce je za fyziologických situací pružně modulována a může tak přispět k zpětnému navození narušené homeostázy. Pokud ovšem dojde k jeho lokální nadprodukcí nebo naopak nedostatku, může to mít pro CNS při déletrvajícím stavu až fatální následky.

Díky intenzivnímu výzkumu role NO v organismu bylo již mnohé odhaleno, zůstává však řada oblastí, kde význam NO není plně objasněn. Studium úlohy NO není snadné, protože jeho výsledný efekt je často bifázický. Bifázický efekt může souviset s paralelní NO aktivací více mechanismů. Tento fenomén by mohl být vysvětlením určitých rozporů při porovnávání protichůdných výsledků některých studií. Postupné detailní rozkrývání role těchto nejasných účinků NO v CNS by mohlo být významným klíčem k odhalení dílčích článků patogeneze závažných chorob a tím i klíčem pro jejich uspokojivější léčbu.

## 8. Přehled použitých zkratk

3NTYR	3-nitrotyrosin
5-HIAA	5-hydroxindolová kyselina
5-HT	serotonin
5-HT <sub>2B</sub>	serotoninový receptor podtyp 2B
5-HT <sub>2C</sub>	serotoninový receptor podtyp 2C
AC	adenylátcykláza
ACTH	adrenortikotropní hormon
ADH	antidiuretický hormon, vazopresin
Ach	acetylcholin
AL	autoinhibiční smyčka NOS
ATP	adenozintrifosfát
BH <sub>4</sub>	tetrahydrobiopterin
Bk	bradykin
BP	bakalářská práce
Ca <sup>2+</sup>	iont vápníku
CaM	kalmodulin
CAPON	C-terminal PZD ligant protein
Cav-1	Caveolin-1
CBF	mozkový průtok krve
cGC	cytozolová guanylátcykláza
cGMP	cyklický guanosinmonofosfát
CGRP	calcium gene-related peptide
Cl <sup>-</sup>	chloridový aniont
cNOS	konstitutivní NOS
CNS	centrální nervová soustava
CO	oxid uhelnatý

CREB	„cAMP response element binding" protein
CRH	kortokotropin uvolňující hormon
CYPOR	cytochrom P450 oxidoreduktáza
DNA	deoxyribonukleová kyselina
eNOS	endoteliální NOS
EPO	eozofilní peroxidáza
FAD	flavinadenindinukleotid
FMN	flavinmononukleotid
GABA	kyselina gamma-aminobutyrová
GC	guanylátcykláza
GTP	guanosintrifosfát
H <sub>1</sub>	histaminový receptor
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peroxid vodíku
HD	oxygenázová doména (N-terminální hemová doména)
HNO <sub>2</sub>	kyselina dusitá
HOCl	kyselina chlorná
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HSP 90	heat shock protein
IL-1	interleukin 1
iNOS	inducibilní NOS
K <sup>+</sup>	draselný kationt (kalium)
L-NA	N <sup>omega</sup> -nitro-L-arginin
L-NAME	N <sup>omega</sup> -nitro-L-arginin metylester
L-NMMA	N <sup>G</sup> -monometyl-L-arginin
LPS	lipopolysacharid
MPO	myeloperoxidáza
MRI	magnetická rezonance
N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	oxid dusitý
N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	oxid dusičitý
Na <sup>+</sup>	sodíkový kationt
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NKA	neurokinin A
NMDAr	N-methyl-D-asparát receptor

nNOS	neuronální NOS
$\text{NO}^-$	nitroxylový aniont
NO	oxid dusnatý
$\text{NO}^+$	nitrosoniový iont
$\text{NO}_2^-$	dusitan
$\text{NO}_2^*$	radikál oxidu dusičitého
$\text{NO}_2\text{Cl}$	nitrosonium chlorid
$\text{NO}_3^-$	dusičnan
NOS	syntáza NO
NR1	lidská reduktáza 1
NREM	pomalý spánek (non rapid eye movements)
$\text{O}_2$	molekulární kyslík
$\text{O}_2^{*-}$	superoxid
$\text{ONOO}^-$	peroxynitrit
$\text{ONOOH}$	kyselina peroxydusitá
$\text{pCO}_2$	parciální tlak oxidu uhličitého
PET	pozitronová emisní tomografie
PG	prostaglandiny
PIN	protein inhibitor nNOS
pKa	disociační konstanta kyseliny
PKG	proteinkináza G
PSD 93/95	postsynaptické denzitní proteiny
rCBF	regionální mozkový průtok krve
RCMO Glu	regionální metabolický cerebrální obrat glukózy
RD	reduktázová doména (C-terminálové flavoproteinová doména)
REM	rychlý spánek (rapid eye movements)
RMD	reaktivní metabolity dusíku
RMO	reaktivní metabolity kyslíku
sGC	solubilní guanylátcykláza
SOD	superoxiddismutáza
SP	substance P
SPECT	jednofotonová emisní počítačová tomografie
TCD	transkraniální Dopplerova sonografie

TK	krevní tlak
Tyr-O*	tyrosyl-radikál
VEGF	vaskulární endoteliární faktor

## 9. Literární zdroje

- (1) Akerman, S., Williamson, D.J., Kaube, H., Goadsby, P.J.: The role of histamine in dural vessel dilatation. *Brain Res.*, 2002, 22, s. 96-102.
- (2) Aktan, F.: iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Science*, 2004, 75, s. 639 – 653.
- (3) Alderton, W. K., Cooperr, Ch. E., Knowles, R. G.: Nitric oxide synthases : structure, function and inhibition. *Biochem. J.*, 2001, 357, s. 593-615.
- (4) Aulak, K.: Proteomic metod identifies proteins nitrated in vivo during inflammatory challenge. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2001, 98, s. 12056-12061.
- (5) Bernstein, H.G., Bogerts, B., Keilhoff, G.: The many faces of nitric oxide in schizoprenia. *ScienceDirect*, 2005, 78, s. 69-86.
- (6) Cao, Y., Aurora, S. K., Nagesh, V. , Patel, S. C., Welch, K. M. : Functional MRI-BOLD of brainstem structures during visually triggered migraine. *Neurology*, 2002, 59, s. 72-78.
- (7) Crkovská, J., Štípek, S.: Faktory ovlivňující stanovení nitritů a nitrátů v séru s použitím nitrátoreduktasy a Griessova reagens. *Klin. biochem. metab.*, 1998, 6, s. 82-87.s
- (8) Daff, S.: Calmodulin-dependent regulation of mammalian nitric oxide synthase. *Biochemical Society Transactions*, 2003, 31, s. 502-505.
- (9) Davis, R.L., Sanchez, A.C., Lindley, D.J., Williams, S.C., Syapin, P.J.: Effects of mechanistically distinct NF-KappaB inhibitors on glial inducible nitric-oxide synthase expression. *Nitric Oxide*, 2005, 12, s. 200-9.
- (10) Facco, E., Munari, M., Baratto, F., Behr, A.U., Dal, A., Cesaro, S., Giacomini, M., Giron, G.: Regional cerebral blood flow (rCBF) in migraine during the interictal period: different rCBF patterns in patients with and without aura. *Cephalalgia*, 1996, 16, s 161-8.
- (11) Fišárková, B.: 3-nitrotyrosin - indikátor změn tvorby reaktivních sloučenin kyslíku a dusíku. *Čs. Fyziol.*, 2002, 51, s. 159-168.
- (12) Gyembycz, M. A., Lindsay, M. A.:Pharmacology of eosinophil. *Pharm.*

Rev., 1999, s. 213-339.

- (13) Hampl, V.: Úloha oxidu dusnatého v normálním plicním oběhu a při plicní hypertenzi. Univerzita Karlova v Praze, lékařská fakulta 2., Ústav fyziologie., 1997.  
Dostupné na <http://fyziologie.lf2.cuni.cz/hampl/habilit/index.htm>
- (14) Hidehito, T., Qiang, Z., Pravat, M., Ming, Li.: Solution structure of the extended neuronal nitric oxide synthase PDZ domain complexed with an associated peptide. *Nature structural biology*, 1999, 6, s. 417 – 421.
- (15) Jáchymová M., Masters B., Horký K., Zima T., Martásek P.: Syntázy oxidu dusnatého, typické hemoflavoproteiny a jejich komplikovaná enzymologie. *Časopis lékařů českých*, 2006, 7, s. 526-530.
- (16) Jang, B.C., Paik, J.H., Kim, S.P., Bae, J.H.: Catalase induces the expression of inducible nitric oxide synthase through activation of NF- KappaB and PI3K signaling pathway in Raw 264.7 cells. *Biochem Pharmacol.*, 2004, 68, s. 2167-2176.
- (17) Jens, P., Dreier, S., Kleeberg, J., Petzold, G.: Endothelin-1 potently induces Leao cortical spreading depression in vivo in the rat. *Brain Vol.*, 2002, 125, s. 102-112.
- (18) Kalina, M.: Mechanizmy sekundárního cerebrálního poškození. *Neurol. pro praxi*, 2007, 1, s. 10-12.
- (19) Kalnovičová, T., Pomníková, A., Traubner, P., Turčáni, P.: Hladiny arginínu a jeho metabolitů citrulinu a ornitínu u pacientů s ložiskovou ischemií mozku. *Psychiatrie*, 2004, 5, s. 8 -11.
- (20) Kocík, M., Hubáček, J., Málek, I.: Genové polymorfismy pro syntázu oxidu dusnatého dárce a koronární nemoc srdečního štěpu. *Cor Vasa*, 2009,51, s. 202–209.
- (21) Kooy, N.W., Royalli, J. A.: Agonist – induced peroxynitrite production from endothelial cells. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1996, 310, s. 352-359.
- (22) Kotas, R., Ambler, Z., Souček, R.: Současná farmakoterapie migrény. *Remedia*, 1992, 2, s. 147-230.
- (23) Kotas, R., Ambler, Z.: Trigeminové autonomní bolesti hlavy. *Bolest.*, 2004, 4, s. 202–206.
- (24) Kotas, R.: Moderní trendy v patofyziologii migrény. *Prakt. lék.*, 1999, 79,

s. 498–500.

- (25) Kotas, R.: Migréna, patofyziologie a léčba. Praha, Maxdorf., 2001, s. 195.
- (26) Kotas, R.: Profylaktická léčba migrény. *Klin. farmakol. farm*, 2006, 20, s. 26–29.
- (27) Kuhlencordt, P.J., Hotten, S., Schoedel, J., Ruetzl, S., Hu, K., Widder, A.M., Huang, P.L., Ertl, G.: Atheroprotective Effects of Neuronal Nitric Oxide Synthase in Apolipoprotein E Knockout Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 2006, 26, s.1539-1544.
- (28) Kuchárková, K., Maršala, J.: Výskyt nitrenergických neuronov v retikulárných jadrách ovlivňujúcich REM spánok na úrovni predĺženej miechy, mostu a stredneho mozgu. *Psychiatrie*, 2003, 4, s. 42-43.
- (29) Kupková, Z., Černá, H., Beneš, L.: Oxid dusnatý a neurodegeneratívny onemocnění. *Psychiatrie* 2002, 4, s. 42-45.
- (30) Kupková, Z., Beneš, L.: Chemické vlastnosti, biologické účinky a metody detekce oxidu dusnatého. *Chem. listy* 2004, 98, s. 16-22.
- (31) Lassen, L.H., Ashina, M., Christiansen, I., Ulrich, V., Grovere, R., Donaldson, J., Olesen, J.: Nitric oxide synthase inhibition: a new principle in the treatment of migraine attacks. *Cephalalgia*, 1998, 18, s. 27-32.
- (32) Lassen, L.H., Thomsen, L.L., Kruse, C., Iversen, H.K., Olesen, J.: Histamine-1 receptor blockade does not prevent nitroglycerin induced migraine. Support for the NO-hypothesis of migraine. *Clin Pharmacol.*, 1996, 49, s. 335-39.
- (33) Lassen, L.H., Thomsen, L.L., Olesen, J.: Histamine induces migraine via the H1-receptor. Support for the NO hypothesis of migraine. *Neuroreport*, 1995, 31, s. 1475-9.
- (34) Lauritzen M.: Spreading depression and migraine. *Pathol Biol Paris*, 1992, 40, s. 332–337.
- (35) Lauritzen, M.: Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory. *Brain*, 1994, 6, s. 199-210.
- (36) Leao, A.A.P.: Spreading depression of activity in cerebral cortex. *Neurophysiol.*, 1944, 7, s. 359–390.
- (37) Marshall, W.H.: Spreading cortical depression of Leao. *Physiol rev.*, 1959, 39, s. 239-390.



- (38) Maruna, P.: Oxid dusnatý v hypotalamo-hypofyzární regulaci-I. fyziologie. *Klinická biochemie a metabolismus*, 2006, 14, s. 189-193.
- (39) Maruna, P.: Oxid dusnatý v hypotalamo-hypofyzární regulaci-II. stres, zánět, apoptóza. *Klinická biochemie a metabolismus*, 2007, 15, s. 5-8.
- (40) Mastík, J.: Nová mezinárodní klasifikace a moderní léčebné postupy, *Interní Med.*, 2004, 10, s. 495–499.
- (41) Medová, E.: Léčiva používaná v terapii migrény. *Remedia*, 2003,13, s. 223–228.
- (42) Minshall, R.D., Sessa, W.C., Stan, R.V., Anderson, R.G., Malik, A.B.: Caveolin regulation of endothelial function. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*, 2003, 285, s.1179-1183.
- (43) Neklanová, M.: Bolesti hlavy u školních dětí. *Pediatr. pro praxi*, 2007, 8, s. 233–236.
- (44) Nematbakhsh, M., Haghjooyjavanmard, S., Mahmoodi, F., Monajemi, A.R.:The effect of L-arginine on serum lipids and nitrite levels, and the number of apoptotic cells, iNOS and eNOS expressions of aorta after the formation of fatty streaks in rabbit. *J. Appl. Biomed.*, 2008, 6, s. 203-210.
- (45) Němcová V.: Kysličník dusnatý a jeho působení v centrálním nervovém systému. *Psychiatrie*, 1999, 3, s. 174-178.
- (46) Olesen, J., Vorstrup, S., Lauritzen, M.: rCBF after TIA and during migraine attacks. *Cephalalgia*, 1985, 6, s. 43-46.
- (47) Olesen, J.: Cerebral and extracranial circulatory disturbances in migraine: pathophysiological implications. *Cerebrovasc Brain Metab Rev*, 1991, 3, s. 1-28.
- (48) Olsen, J.: The ischemic hypotheses of migraine. *Arch. Neurol.*, 1987, 9, s. 321-322.
- (49) Pardutz, A., Multon, S., Malgrange, B., Parducz, A., Vecsei, L., Schoenen, J.: Effect of systemic nitroglycerin on CGRP and 5-HT afferents to rat caudal spinal trigeminal nucleus and its modulation by estrogen. *Neurosci.*, 2002, 15, s.1803-1809.
- (50) Racek, J., Holeček, V.: Vznik volných radikálů a enzymy. *Klin. Biochem. Metab.*, 1999, 7, s. 158-163.
- (51) Rodacker, V., Toustrup, M., Vilsen, B.: Mutations Phe785Leu and

- Thr618Met in Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase. *Biol. Chem.*, 2006, 281, s.18539-18548.
- (52) Rokyta, R., Racek, J., Holček, V.: Volné radikály v centrálním nervovém systému. *Čs. fyziol.*, 1996, 45, s. 4-12.
- (53) Řičicová, V., Benešová, M., Beneš, L.: Úloha kaspas a reaktivních forem kyslíku a dusíku při neuronálních poškozeních. *Psychiat.*, 2004, 5, s.21-22.
- (54) Salvemini, D., Cuzzocrea, S.: Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002, 33, s. 1173 – 1185.
- (55) Saur, D., Paehge, H., Schusdziarra, V., Allescher, H. D.: Distinct expression of splice variants of neuronal nitric oxide synthase in the human gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, 2000, 118, s. 849-858.
- (56) Shimomura, T., Murakami, F., Kotani, K., Ikawa, S., Kono, S.: Platelet nitric oxide metabolites in migraine. *Cephalalgia*, 1999, 19, s. 218-222.
- (57) Schreiber, V.: Oxid dusnatý je také mediátorem denních rytmů. *Vesmír*, 1995, 3, s. 175.
- (58) Schwarte, R.C., Godfrey, E.W.: Nitric oxide synthase activity is required for postsynaptic differentiation of the embryonic neuromuscular junction. *Dev Biol.*, 2004, 15, s. 276-284.
- (59) Spengos, K., Theleritis, C., Paparrigopoulos, T.: Memantine and NMDA antagonism for chronic migraine: a potentially novel therapeutic approach? *Headache.*, 2008, 48, s.1380.
- (60) Srikiatkachorn, A., Suwattanasophon, C., Ruangpattanatawee, U., Phansuwan-Pujito, P.: 5-HT<sub>2A</sub> receptor activation and nitric oxide synthesis: a possible mechanism determining migraine attacks. *Headache*, 2002, 42, s. 566-574.
- (61) Šíroká, R., Racek, J., Filipovský, J.: Asymetrický dimethylarginin (ADMA). *Klin. biochem. a metab.*, 2005, 13, s. 131-134.
- (62) Šmídová, J., Komárek, V.: Bolesti hlavy v dětském věku. *Bolest*, 2008, 2, s. 84-92.
- (63) Štípek, S.: Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci. Grada, Praha 2000, s. 191–206.
- (64) Teplan, V.: Asymetrický dimethylarginin jako cíl farmakoterapie

- Postgraduální nefrologie, 2006, 1, s. 35-36.
- (65) Tommaso, M., Libro, G., Guido, M., Difruscolo, O., Losito, L., Cerbo, R.: Nitroglycerin induces migraine headache and central sensitization phenomena in patients with migraine without aura: a study of laser evoked potentials. *Neurosci Lett.*, 2004, 17, s. 272-275.
- (66) Topinková, E.: Apoptóza – programovaná buněčná smrt a stárnutí. *Sanquis*, 2002, 20, s. 14-19.
- (67) Wahl, M. L., Parsons, A.A., Kaumann, A.: Involvement of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and nitric oxide (NO) in the pial artery dilatation elicited by cortical spreading depression. *Brain Res.*, 1994, 21, s. 204-210.
- (68) Wang, J., Slungaard, A.: Role of eosinophil peroxidase in host defense and disease pathology. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2006, 445, s. 256-260.
- (69) Wang, M., Obrenovitch, T.P., Urenjak, J. : Effects of the nitric oxide donor, DEA/NO on cortical spreading depression. *Neuropharmacology.*, 2003, 44, s. 949-57.
- (70) Welch, M.: Migraine. A Biobehaviorals disorder. *Arch. Neurol.*, 1987, 44, s. 323-327.
- (71) Welch, M.: The occipital cortex as a generator of migraine aura. *Cephalalgia*, 1998, 18, s.15-21.
- (72) Woodhouse, A., Drummond, P.D.: Mechanisms of increased sensitivity to noise and light in migraine headache. *Cephalalgia*, 2002, 13, 6, s. 417-421.
- (73) Wu, G., Morris, S.M.: Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J.*, 1998, 15; s. 1-17.
- (74) Xu, Y., Tao, Y.X.: Involvement of the NMDA receptor/nitric oxide signal pathway in platelet-activating factor-induced neurotoxicity. *Neuroreport*, 2004, 9, s. 263-266.
- (75) Zima, T.: Oxid dusnatý (NO) – fyziologické a patologické účinky v organismu. *Remedia*, 1997, 7, s. 298-307.

