

SEPSİS VE SEPTİK ŞOK TEDAVİSİNDE NİTRİK OKSİTİN ROLÜ

Metin KARABÖCÜOĞLU

Septik şok masif sistemik vazodilatasyon, düşük damar direnci, artmış kardiyak debi ve yüksek ölüm oranı ile karakterizedir. Septik şoktaki bu global vazodilatasyon, ekzojen vazokonstriktör ajanlara cevapsızdır ve çoklu organ yetersizliği ile mortaliteyi belirleyen en önemli faktördür.

Bir distal inflamatuvar medyatör olan nitrik oksit (NO), septik şok sırasında arttığı pek çok çalışmada gösterilmiştir (11). Nitrite/nitrate (NOx) düzeyleri septik hayvanların kan ve idrarlarında yüksek bulunmuş, ayrıca *Escherichia coli* ve lipopolisakkarit (LPS) vermek suretiyle yaratılan hayvan modellerinde de yükseldiği gösterilmiştir (6). Stafilokok enterotoksin B'sinin ve stafilokoklardan elde edilen lipoteikoik asidin deney hayvanlarına verilmesi de aynı şekilde artmış NO salınımıyla birlikte; şok ile sonuçlanmıştır (19). Gram negatif ve Gram pozitif septik modellerde, koruyucu olarak nötralizan tümör nekroz faktör- α (TNF- α) antikorlarının uygulanması plazma NO düzeylerinde anlamlı düşüşlere yol açarak, TNF- α 'nın NO indüksiyonuna katkıda bulunduğunu kanıtlamıştır. Bu bulguya uygun şekilde antiinflamatuvar bir sitokin olan interlökin-10'un da (İL-10) indüklenebilen nitrik oksit sentetaz (iNOS) ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (5).

iNOS yolunun olmadığı farelerde yapılan bir çalışma, NO'nun sepsisteki kritik rolünü ortaya koymuştur. iNOS mutant farelerin LPS'nin yol açtığı septik şoka karşı normal farelerden daha dirençli oldukları gösterilmiştir. Mutant fareler sadece minimum semptomlar gösterip, hiç ölüm olmazken, normal farelerde 24 saat içinde % 12'den fazla tartı kaybı olmuş ve % 60'dan fazlası ölmüştür (20). Buna karşılık mutant farelerde yara iyileşmesinde gecikme ve *Listeria*'lara karşı direncin azaldığı görülmüştür.

NO damar düz kasının gevşemesinde, trombosit adhezyon ve agregasyonunun inhibisyonunda, lökositlerin endotele adhezyonunun inhibisyonunda, bakterilerin öldürülmesinde, tümör hücrelerinin temizlenmesinde, santral ve periferik sinir sisteminde sinyal iletilmesinde, hormonların salınmasında ve bağışıklık fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli görevlere sahiptir. Ağır bakteriyel infeksiyonlar sırasında NO çok aşırı miktarlarda üretilir; bu durumda sitotoksik etkisi patojenlere olduğu kadar konağa da olur. Ayrıca solubl guanil siklazı aktive eder ve cGMP'nin kontrol ettiği aşırı bir vazodilatasyon olur; bu da dolaşım yetmezliğine yol açar.

Sepsis tedavisinde nitrik oksit

Biyolojik ve fizyolojik özelliklerinden dolayı inhale edilen NO, son yıllarda gerek klinik, gerekse deneysel olarak, pulmoner arter hipertansiyonunun bulunduğu yenidoğanın persistan pulmoner hipertansiyonu, mekonyum aspirasyonu sendromu, konjenital diafragma herni, vb durumlarda kullanılmaktadır.

Sepsis ve septik şoktaki çoklu organ yetersizliğinin en önemli bulgularından teki, erişkin tipi sıkıntılı solunum sendromudur (ARDS). ARDS yaygın akciğer yaralanmasının sonucudur. Arteriyel hipoksemiye yol açan intrapulmoner şantlar, vazokonstriksiyondan dolayı gelişen akut pulmoner arteriyel hipertansiyon ve yaygın pulmoner mikrovasküler tıkanık-

lık ile karakterizedir.

NO inhalasyonunun, ventile edilen akciğer bölgelerindeki perfüzyonu seçici olarak düzeltebileceği, böylece intrapulmoner şanti azaltıp, arteriyel oksijenasyonu yükseltebileceği mantığı ile pek çok ARDS'li hayvan modelinde ve ARDS olan hastada denenmiştir. Rossaint ve arkadaşları (bkz 10) ağır ARDS'li 10 hastada 18 ppm NO inhalasyonunun akut olarak kardiyak debi ve arteriyel basıncı değiştirmeksizin, intrapulmoner şant miktarını % 36'dan % 31'e düşürdüğünü bildirmişlerdir. Gerlach ve arkadaşları (bkz 10). 12 ARDS'li hastada düşük doz NO'nun arteryal hipoksemiyi düzelttiğini fakat 100 ppm üzerinde ise arteryal hipoksemiyi artırdığını bildirmişlerdir. Kullanılması gereken optimum doz hakkında henüz fikir birliği yoktur, dozun tamamen hastanın durumuna bağlı olabileceği de düşünülmektedir. Her iki çalışmada da pulmoner arter ortalama basıncında anlamlı düşüş görülmüştür.

ARDS'li hastalarda ölüm nedeni genellikle bakteriyel sepsis ve çoklu organ yetersizliği olduğu için tek başına arteriyel hipoksemiyi düzeltmenin mortaliteyi azaltıp azaltmayacağı belli değildir. Rossaint'in bildirdiği 87 ARDS'li hastanın retrospektif incelenmesinde; NO alan grupta hipokseminin düzelmesi ve ortalama pulmoner arter basıncının düşmesine karşılık, mortalitede bir fark yoktur (bkz 10). Bu konuda şu anda Kuzey Amerika'da yapılan çok merkezli bir çalışmada, ARDS'de NO uygulaması prospektif, randomize olarak denlenmektedir.

Sepsis tedavisinde nitrik oksit inhibisyonu

Sepsisteki vasküler dilatasyonda, artmış iNOS ekspresyonunun yol açtığı aşırı NO üretiminin rolü olduğuna dair kanıtların artması üzerine, çeşitli araştırmacılar nitrik oksit sentetaz (NOS) inhibitörlerini kullanarak, sepsisteki hemodinamik değişiklikleri geri döndürmek istemişlerdir. Fakat NO sadece hemodinamik değişikliklerden değil, aynı zamanda immün yanıtın düzenlenmesinden, trombosit adhezyon ve agregasyonunu inhibe ederek mikrotrombus oluşumunun engellenmesinden, antibakteriyel etkilerden ve hayati organlara olan kan akımının düzenlenmesinden de sorumlu olduğu için, sepsiste NO düzeyini değiştirmeye yönelik çalışmalar iki ucu keskin bıçak gibidir ve pek çok dinamik çalışmanın yapıldığı bir alandır.

a- Nonspesifik NO inhibitörleri:

NO'nin etkileri, NOS'ın transkripsiyon, posttranskripsiyon aşamalarında, enzimatik basamaklarında, substratlarının temininde ve NO'nun efektör moleküllerinde olmak üzere farklı aşamalarda engellenebilir.

Transkripsiyon düzeyindeki girişimler NOS'un indüksiyonunu ilgilendirir ki, bunlar ağır sepsiste zararlı gözükmektedir. Bu alanda glukokortikosteroidler (GCS), iNOS'un endotel hücrelerindeki LPS ve IFN- γ tarafından aktive edilen ekspresyonunu bloke ederler (14). Bu olay damar düz kas hücrelerinde, makrofajlarda, nötrofillerde ve hepatositlerde gösterilmiştir. Önceden deksametazon verilmesi izole damar preparatlarında, LPS'nin yol açtığı damar yetersizliğini ve iNOS indüksiyonunu önler (15). Ayrıca sıçanlardaki endotoksik şok modelinde de, NOS indüksiyonunu azalttığı gösterilmiştir (17). Bu tip bir indüksiyon inhibisyonunun hipotansiyonu önleyebileceği ve vazokonstriktör ajanlara cevapsızlığı ortadan kaldıracabileceği düşünülse de, septik şokta GCS'lerin pek çok aşamada farklı rolleri olduğu için, GCS'ler yararlıdır demek kolay değildir. Kaldı ki, septik şokta steroid verilen hastalarda klinik çalışmalarda bir fayda görülmemesinin bir diğer nedeni de, steroid verildiğinde iNOS'un transkripsiyon aşamasının çoktan geçmiş ve NO'nun salınmış olmasıdır.

En sık kullanılan ve en gelişmiş model L-arginin analogları ile NOS substratlarının kompetitif inhibisyonudur. Çünkü bu yöntem L-arginin düzeyinin artırılması ile geri dön-

dürülebilir. Bunlar nonspesifiktir ve yapısal (=constitutional) NOS'u (cNOS) inhibisyon güçlerine göre dizildiklerinde N^G-nitro-L-arginin-metil ester (L-NAME) > N^G-amino-L-arginine > N^G-monometil-L-arginin (L-NMMA). Buna karşılık iNOS'u inhibisyon güçlerine göre N^G-amino-L-arginine > L-NMMA>L-NAME (18). L-NMMA, L-NAME'ye göre yaklaşık 30 kat daha zayıf bir cNOS inhibitörüdür. Bu etki ayrıca ortamda bulunan L-argininin düzeyine göre de değişir.

NO sentetaz enzimini kompetitif olarak bloke eden N^G-nitro-L-arginin-metil ester (L-NAME) ve N^G-monometil-L-arginin (L-NMMA) deneysel sepsis ve insan sepsis çalışmalarında kullanılmıştır. Genel olarak NO sentezini inhibe eden ajanlar kullanıldığında hastanın ortalama arter basıncı, sistemik damar direnci artmakta, normotansif değerler yaklaşmakta, buna karşılık kalp debisi ve oksijen sunumu düşmekte ise de, NO modülasyonunun sistemik damar direncini normalleştirmekte ve kalp debisini idame ettirmekteki etkinlikleri henüz kesinlik kazanmamıştır. NO'nun kendisi kardiyotoksik olabilir veya NOS'un blokajı kardiyak toksisiteye yol açabilir. Ayrıca NO'nun nötrofillerin bakterisidal aktivitelerinde de rolü vardır. Dolayısı ile infekte kişilerde NOS blokajı tehlikeli olabilir.

İnsanlarda L-NMMA'nın kullanımı ilk defa 1991'de bildirilmiş ve inotropik ajanlara yanıtız hipotansiyonu olan iki hastada Petros ve arkadaşları tarafından sistemik olarak kullanılmıştır. Her iki hastada da, kan basıncı normale geldiyse de, sonunda iki hasta da kaybedilmiştir. Aynı grup daha sonra 12 hastada 0.3 ve 1 mg/kg bolusu takiben 1 mg/kg/6 saat infüzyon tedavisini denemişlerdir (12). Yine kan basıncı normale gelmiş, kardiyak debi düşmüş, fakat grup küçük olduğu için mortalite hakkında bir şey söylemek mümkün olmamıştır.

1995'te Wellcome International Septic Shock Study Grup bir nonspesifik NOS inhibitörü olan L-NG-metilarginin hidrokloridini farmakokinetiğini, 28 septik ve 32 sağlıklı hastada denemişlerdir. Dozun 1-2.5mg/kg/saat olması gerektiğine karar verilmiştir. Trombosit sayısındaki orta miktardaki düşüşün dışında herhangi bir istenmeyen etki görülmemiştir (7). Hemen arkasından randomize, plasebo kontrollü bir faz III çalışması başlatılmış ve 312 septik hastada, L-NG-metilarginin hidroklorid, katekolaminlerle karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın esas sonuç kriteri, ilk 72 saatte şoktan çıkma olarak kabul edilmiştir. L-NG-metilarginin hidroklorid ile tedavi edilen hastalar kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha çabuk şoktan çıkmışlar ve ilacın güvenilir olduğu görülmüştür. Böylece nitrik oksit sentetaz antagonizminin, yakın bir gelecekte, hemodinamik olarak stabil olmayan sepsisli hastalarda bir umut olabileceği gösterilmiştir. Fakat NOS antagonizminin NO'nun diğer etkilerini (özellikle antibakteriyel defans etkisini) nasıl değiştireceği henüz netlik kazanmamıştır (8).

Avontuur ve ark. (1) hiperdinamik fazdaki ve sıvı ile vasopressor tedaviye yanıtız 11 septik şoklu hastada N^G-nitro-L-arginin-metil ester (L-NAME) ile uzun süreli NOS inhibisyonunun, hipotansiyon tedavisindeki etkilerini prospektif nonrandomize bir çalışma ile araştırmışlardır. Çalışmada L-NAME 1 mg/kg/saat hızında 12 saat boyunca verilmiştir. Sonuçta ortalama arterial basınç, sistemik damar direnci 30 dakika içinde artmış, pulmoner arter basıncı ve pulmoner damar direnci ilk 3 saat içinde yükselmiş ve bunlara bağlı olarak kalp debisi ve oksijen sunumu anlamlı olarak düşmüştür. Kalp hızı, oksijen tüketimi, idrar miktarı, arteriyel laktat düzeyi, biokimyasal değerler anlamlı olarak değişmemiş, arterial oksijen konsantrasyonu yükselmiş ve katekolamin dozu azaltılabilmmiştir. Her ne kadar etki devamlı gözükse de en etkili olduğu dönem tedavinin başlangıcı olmuş ve sonra etki hafiflemiştir. Sonuçta 11 hastanın 7'si 2 ila 34 gün içinde ölmüş ve araştırmacılar L-NAME'nin mortaliteye etkisinin çok az olduğu yorumunu yapmışlardır (1).

Bazı araştırmacılar NO'nun etkisini, solubl guanil siklaz enzimini inhibe eden metilen

mavisi ile değiştirmeyi denemişlerdir. Septik şoktaki 9 erişkin hastaya, 2mg/kg metilen mavisi 20 dakika boyunca verilmiş ve daha sonra 2 saat boyunca hemodinamik ve fizyolojik parametreler izlenmiştir. 15-30 dakika içinde kalp debisi, atım hacmi ve ortalama arter basıncı yukselmiş, 12 saat içinde bazal değerlere dönmüştür. Bu bulgu sepsisteki miyokard depresyonunda L-arginin veya NO'nun santral bir rolü olduğunun göstergesi olarak yorumlanmıştır. Aynı grup, daha sonra 14 erişkin sepsis sendromlu hastada metilen mavisini denemiş ve kalp debisi düşmeksizin kan basıncının yükseldiği görülmüştür (13). Driscoll ve arkadaşları (4) ise metilen mavisini refrakter hipotansiyonlu 5 yenidoğan bebekte denemişler ve hastaların hepsinde kan basıncının yükseldiğini göstermişlerdir. Fakat bir kontrol grubu söz konusu olmadığı için nihai prognoz üzerine olan etkisi değerlendirilememiştir.

Karaciğerde arginin, arginaz enzimi ile hızla hidrolize edilir ve karaciğer arginin düzeyi düşer. Arginaz enziminin dışarıdan uygulanması, plazma arginin düzeyini düşürür ve sepsisteki hipotansiyonun çok daha hafif olmasına yol açabilir. Plazma L-arginin konsantrasyonunu normalde 80-110 mmol sınırındadır, sepsiste de benzer veya daha düşük değerler elde edilmiştir (16). Arginin hepatositlere sodyumdan bağımsız bir pompa ile alınır ve sepsiste bu sistem artarken, L-arginin analogları bu transport sistemini bloke ederler. Dolayısı ile bu transport sistem de sepsisteki potansiyel hedeflerden biridir. Ayrıca pek çok alışma NO sentezinde kullanılan L-argininin eksojen kaynaklı olduğunu göstermiştir. Böylece NO sentezini kontrol etmekte dışarıdan verilen arginin düzeyi de önemli olabilir.

b- Seçici iNOS inhibitörleri:

Çalışmalardaki en önemli problemlerden biri, kullanılan L-NAME ve L-NMME gibi inhibitörlerin iNOS ve cNOS'u beraberce inhibe etmeleridir. NO'nun iNOS tarafından aşırı üretilmesinin sitotoksitede ve dolaşım yetersizliğinde rolü olduğu aşıkardır. Dolayısı ile bloke etmek mantıklı gözükmektedir. Buna karşılık sağlam bir endotelial NOS (eNOS) aktivitesi de periferik ve koroner vasokonstriksiyon, artmaş platelet agregasyonu ve kardiyak performans için gereklidir.

Her ne kadar % 100 olmasalar da bazı seçici iNOS inhibitörleri vardır. Bunlardan biri 2,4-diamino-6-hidroksipridindir (DAHP). Bu madde tetrahidrobiopterin (BH4) sentezini bloke eder. Diğer NOS formlarının aksine iNOS aktivitesi tamamen BH4'c bağlıdır. Bune ve arkadaşları (2) septik farelerde DAHP'nin hipotansiyonu anlamlı olarak düzelttiğini ve mortaliteyi azalttığını göstermişlerdir.

Transforming growth faktör β (TGF- β) muhtemelen en güçlü endojen seçici iNOS inhibitörüdür. TGF- β iNOS transkripsiyonunu bloke eder. LPS verilmiş farelerin TGF- β ile tedavi edilmesi ile septik hipotansiyonun ve mortalitenin dramatik olarak düştüğü gösterilmiştir. Fakat TGF- β 'nin uygulanmasının doku fibrozu yapması, klinik kullanımını güçleştirmektedir. Son olarak α -melanosit stimulan hormon (α -MSH)'nin selektif iNOS inhibisyonu da dahil olmak üzere güçlü antiinflamatuvar etkileri olduğu ve septik farelerdeki sonuçların, DAHP ve TGF- β ile karşılaştırılacak kadar iyi olduğu bildirilmiştir (3). İnsan alışmaları henüz yoktur.

Menenjitte NO inhibisyonu

Eğer multi organ yetersizliği olan sepsiste NO inhibisyonunun tedavi edici etkisi yoksa, menenjit gibi tek organ infeksiyonunda yeri olabilir mi? Serebral patofizyolojiye yaklaşımda NO inhibitörlerinin rolü esas olarak infeksiyonun evresine ve daha önemlisi serebral kan akımının durumuna bağlıdır. Deneysel menenjitin erken evresinde L-nitro-L-arginin serebral kan akımı ve intrakranial basıncıdaki anormal artışları inhibe etmiştir. Fakat menenjitin geç döneminde serebral kan akımı düştüğünde verilince hipoperfüzyonu artırmıştır. Deneysel neonatal menenjitte, yenidoğmuş farelere bir spesifik iNOS inhibitörü olan aminogu-

anidin antibiyotiklerle birlikte verildiğinde beklenenin aksine, sadece antibiyotik verilenlere göre daha fazla konvulziyon ve daha fazla hipoksik beyin hasarı oluşmuştur. Bu tedavi antibiyotikten önce verildiğinde BOS'taki bakteri konsantrasyonu daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar NO'nun antibakteriyel etkisinin ve iNOS tarafından regüle edilen serebral vazodilatasyonun menenjitin iyileşmesinde önemli olduğunu göstermiştir (9).

Bu tartışmaların ışığında, NO sentezi inhibisyonunun sepsiste sistemik vasküler dirençteki düşüşü önleyerek faydalı olabileceği düşünülebilir. Fakat NOS inhibisyonunun arteriyel kan basıncını yükseltip, organ perfüzyonunu düzeltereği ümit edilse de, 1991'den beri sınırlı sayıda hasta üzerinde yapılmış olan çalışmalar, değişmez bir şekilde kalp debisinin düştüğünü göstermiştir. NO'nun böyle global inhibisyonu aşırı bir vazokonstriksiyona yol açarak, sepsiste gözlenen patolojik vazodilatasyondan daha tehlikeli olabilmektedir. Nitekim bu klinik çalışmalarda da mortalite değişmemiştir.

Gözlenmiş olan azalmış hepatic ve renal fonksiyonlar, pulmoner hipertansiyonun kötüleşmesi ve trombosit agregasyonunun artması gibi yan etkilerin bir kısmı inhibitörün dozunun yanlış ayarlanmasına veya NOS'un global olarak inhibisyonuna bağlı olabilir. Gelecekte inhale NO'nun NOS inhibitörleri ile birlikte kullanılması, ya da nonspesifik NOS inhibitörleri yerine spesifik iNOS inhibitörlerinin kullanılması düşünülebilir.

Sonuç olarak NO'nun blokajının infeksiyon hastalıklarında kullanılıp kullanılmayacağı, kullanılacaksa hangi aşamada kullanılabileceği henüz açık değildir. Fakat unutmamak gerekir ki, Fleming'in test tüpünde penisilinin bakterileri öldürdüğünü gösterdiği 1928'den, penisilinin hastaya ilaç olarak ilk kez verildiği 1941 yılına kadar tam 13 yıl geçmiştir. Bugün her ne kadar elimizdeki imkanlar Fleming'in zamanına göre çok daha fazla gelişmiş ise de, uğraştığımız sitokin yolları da çok daha karışık ve birbirleri ile içiçe ilişkileri olan kollarıdır. Dolayısı ile araştırmaya ve çalışmaya asla ara vermemek gerekir.

KAYNAKLAR

- 1- Avontuur JA, Tutein Nolthenius RP, van Bodegom JW, Bruining HA: Prolonged inhibition of nitric oxide synthesis in severe septic shock: A clinical study, *Crit Care Med* 26: 660 (1998).
- 2- Bune AJ, Brand MP, Heales SJR, Shergill JK, Cammark RC: Inhibition of tetrahydrobiopterin synthesis reduces in vivo nitric oxide production in endotoxic shock, *Biochem Biophys Res Comm* 220: 13 (1996).
- 3- Chiao H, Foster S, Thomas R, Lipton J, Star RA: α -Melanocyte stimulating hormone reduces endotoxin-induced liver inflammation, *J Clin Invest* 97: 2038 (1996).
- 4- Driscoll W, Thurin S, Carrion V, Steinhorn RH, Morin FC: Effect of methylene blue on refractory neonatal hypotension, *J Pediatr* 129: 904 (1996).
- 5- Evans T, Carpenter A, Silva A, Cohen J: Differential effects of monoclonal antibodies to tumor necrosis factor-alpha and gamma-interferon on induction of hepatic nitric oxide synthase in experimental gram-negative sepsis, *Infect Immun* 60: 4133 (1992).
- 6- Granger DL, Hibbs JB, Broadnax LM: Urinary nitrate excretion in relation to murine macrophage activation, *J Immunol* 146: 1294 (1991).
- 7- Guntupalli K, Grover R, Jeefs R, Colice G, Watson D, Vincent JL: Effects of 546C88 on selected inducers of organ functions in patients with septic shock (abstract), *Intensive Care Med* 21: S21 (1995).

- 8- Ketteler M, Cetto C, Kirdorf M, Jeschke SG, Schafer H, Distler A: Nitric oxide in sepsis-syndrome: Potential treatment of septic shock by nitric oxide synthase antagonists, *Kidney Int* 53: S27 (1998).
- 9- Leib SL, Kim YS, Black SM, Tureen JR, Tauber MG: Inducible nitric oxide synthase and the effect of aminoguanidine in experimental neonatal meningitis, *J Infect Dis* 177: 692 (1998).
- 10- Mizutani T, Layon AJ: Clinical applications of nitric oxide, *Chest* 110: 506 (1996).
- 11- Payen D, Bernard C, Beloucif S: The sepsis syndrome, Nitric oxide in sepsis, *Clin Chest Med* 17: 333 (1996).
- 12- Petros A, Lamb G, Leone A, Moncada S, Bennet D, Vallance P: Effects of a nitric oxide synthase inhibitor in humans with septic shock, *Cardiovasc Res* 28: 34 (1994).
- 13- Preiser JC, Lejeune P, Roman A, Carlier E, De Backer D, Leeman M, Kahn RJ, Vincent JL: Methylene blue administration in septic shock: A clinical trial, *Crit Care Med* 23: 259 (1995).
- 14- Radomski MW, Palmer RM, Moncada S: Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells, *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 10,043 (1990).
- 15- Rees DD, Celtek S, Palmer RM, Moncada S: Dexamethasone prevents the induction by endotoxin of a nitric oxide synthase and the associated effects on vascular tone: An insight into endotoxin shock, *Biochem Biophys Res Commun* 173: 541 (1990).
- 16- Sax H, Hasselgreen P-O, Talamini M, Edwards LL, Fischer JL: Amino acid uptake in isolated, perfused liver: Effect of trauma and sepsis, *J Surg Res* 45: 50 (1988).
- 17- Szabo C, Mitchell J, Thiernermann C, Vane JR: Nitric oxide-mediated hyporeactivity to noradrenaline precedes the induction of nitric oxide synthase in endotoxin shock, *Br J Pharmacol* 108: 786 (1993).
- 18- Thiernermann C, Vane JR: Inhibition of nitric oxide synthesis reduces the hypotension induced by bacterial lipopolysaccharides in the rat in vivo, *Eur J Pharmacol* 182: 591 (1990).
- 19- Tracey WR, Tse J, Carter G: Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: Pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors, *J Pharmacol Exp Ther* 272: 1011 (1995).
- 20- Wei X, Charles IG, Smith A, Ure J, Feng GS, Huang FP, Xu D, Muller W, Moncada S, Liew FY: Altered immune responses in mice lacking inducible nitric oxide synthase, *Nature* 375: 408 (1995).