

Oleik Asit ile Oluşturulan Akut Akciğer Hasarında Görülen Nitrik Oksit Metabolitlerinin Artışı Üzerine N-Asetilsistein'in Etkisi

THE EFFECT OF N-ACETYLCYSTEIN ON THE INCREASE OF NITRIC OXIDE METABOLITES OBSERVED IN OLEIC ACID-INDUCED ACUTE LUNG INJURY

Dr.Oğuz KÖKSEL,^a Dr.Lülüfer TAMER,^b Dr.Ali ÖZDÜLGER,^a
Dr.Menderes ERÇİL,^a Dr.Bahadır ERCAN,^b Dr.Arzu KANIK^c

^aGöğüs Cerrahisi AD, ^bBiyokimya AD, ^cBiyostatistik AD, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, MERSİN

Özet

Amaç: Oleik asit (OA) ile oluşturulan akut akciğer hasarında serum nitrik oksit metabolit düzeylerindeki değişiklikleri ve N-asetilsistein (NAS) tedavisinin bu metabolitler üzerine etkilerini deneysel sıçan modelinde araştırmak.

Gereç ve Yöntemler: Her biri 7 hayvandan oluşan 5 grup oluşturuldu. Oleik asit etanolde çözüldükten sonra serum fizyolojik ile sulandırılarak hazırlandı. Birinci gruba (Sham grubu) serum fizyolojik + etanol verildi. İkinci gruba (NAS grubu) NAS + serum fizyolojik + etanol verildi. Üçüncü gruba (OA grubu) oleik asit + serum fizyolojik + etanol verildi. Dördüncü gruba (Pre-OA-NAS grubu) oleik asit infüzyonundan 15 dakika önce NAS uygulandı. Beşinci gruba (Post-OA-NAS grubu) oleik asit infüzyonundan 2 saat sonra NAS uygulandı. Tüm gruplarda OA infüzyonundan 4 saat sonra median sternotomi ile göğüs kafesinin açılmasını takiben kalp ponksiyonu ile kan örneği alındı ve serum nitrit + nitrat düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Serum toplam nitrit + nitrat düzeyleri OA grubunda, Sham grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmış iken ($p=0.000$), NAS uygulanan pre-OA-NAS ($p=0.0001$) ve post-OA-NAS ($p=0.000$) gruplarının her ikisinde de serum toplam nitrit + nitrat düzeylerinde belirgin azalma saptandı.

Sonuç: Oleik asit ile oluşturulan akut akciğer hasarı modelinde, hasar göstergesi olarak serum nitrik oksit metabolit düzeylerinin arttığı, NAS kullanılmasının metabolit düzeylerini azaltmada etkili olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akut akciğer hasarı, oleik asit, nitrik oksit metabolitleri, N-Asetilsistein

T Klin J Med Sci 2004, 14:323-327

Abstract

Objective: To explore the changes in serum nitric oxide metabolite levels as a consequence of oleic acid (OA) -induced acute lung injury and to describe the effects of N- acetylcysteine (NAC) treatment on OA metabolite levels in an experimental rat model.

Material and Methods: Five groups of rats, each containing 7 animals, were used in this study. OA was dissolved in ethanol and diluted with saline. Group 1 (sham) was given saline (NaCl 0.9%) and ethanol; group 2 (NAC) was administered NAC, saline and ethanol; group 3 (OA) received OA, saline and ethanol; group 4 (Pre-OA-NAC) received NAC 15 minutes before oleic acid infusion; group 5 (Post-OA-NAC), received NAC two hours after OA infusion. In all of the groups blood samples were taken 4 hours after OA infusion following mid-line sternotomy with cardiac puncture. Serum nitrite and nitrate levels were measured.

Results: Serum total nitrite and nitrate levels in the OA-Group were found to be increased significantly when compared with the shams ($p<0.001$), whereas NAC administration caused a significant decrease in serum total nitrite/nitrate levels in both pre-OA-NAC ($p<0.001$) and post-OA-NAC ($p<0.001$) groups.

Conclusion: It was shown that serum nitric oxide metabolite levels increased as an injury marker in this OA-induced acute lung injury model. NAC was effective in decreasing nitric oxide metabolite levels.

Key Words: Acute lung injury, oleic acid, N-Acetylcysteine, nitric oxide metabolites

Geliş Tarihi/Received: 20.09.2003

Kabul Tarihi/Accepted: 26.02.2004

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr.Oğuz KÖKSEL
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Araştırma ve Uygulama Hastanesi
Zeytinlibahçe Caddesi 33079 MERSİN
oguzkoxsel@mersin.edu.tr

Copyright © 2004 by Türkiye Klinikleri

Yüksek morbidite ve mortalite hızlarına sahip Akut Akciğer Hasarı (AAH) ve Akut Respiratuar Distress sendromu (ARDS); travma, aspirasyon, sepsis, pnömoni, endotoksemi gibi pekçok klinik tabloya eşlik etmektedir. Günümüzde ARDS'nin tam olarak iyileştirici bir

tedavisi mümkün olmayıp büyük oranda destek tedavisi yapılabilmektedir.^{1,2} İntravenöz yolla verilen oleik asit'in (OA) akciğerlerde oluşturduğu morfolojik ve hücrel değişiklikler AAH ve ARDS'de görülenlere benzemektedir. Bu nedenle OA ile oluşturulan akut akciğer hasarı modeli deneysel çalışmalarda sık olarak kullanılmakta ve çok sayıda farmakolojik ajan, ARDS tedavisine katkı sağlamak amacıyla denenmektedir.³⁻⁵

Nitrik oksit (NO), memeli dokularında L-arginin'den nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile endogen olarak sürekli sentezlenen, 6-30 saniye gibi çok kısa yarı ömüre sahip, yüksüz yapısı ile biyolojik membranlardan kolayca difüze olup hücre içi hedeflerine ulaşarak farklı olaylarda aracı rolü oynayan, çözünürlüğü az bir gazdır.⁶⁻⁹ NO, içerdiği ortaklanmamış elektronu ile oksijen, superoksit radikalleri, demir-bakır-kobalt-manganez gibi geçiş elementleri metaller ile kompleks yapabilir. Bu özellikleri NO'nin hücre/doku düzeyinde çok sayıda olayda rol oynamasına ve çeşitli bileşikler oluşturmaya olanak sağlar.¹⁰

NO, süperoksit ($O_2^{\cdot -}$) ile reaksiyona girdiğinde peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) oluşur. Güçlü bir oksidan olan peroksinitrit; proteinleri, lipidleri, karbohidratları, nükleik asitleri ve diğer biyomolekülleri oksidize ederek inflamasyon, ateroskleroz, iskemi-reperfüzyon hasarı, sepsis ve ARDS gibi çeşitli hastalıkların patofizyolojisine katılır ve doku hasarında artışa yol açar.¹⁰⁻¹² Peroksinitrit ayrıca H^+ ile reaksiyona girerek hidroksil radikali (HO^{\cdot}) gibi kuvvetli oksidanların oluşumuna da yol açar.¹³

NO'nin damar endoteli, makrofajlar, trombositler, sinir hücreleri, surrenal bezler, mide, uterus epitel hücreleri, pankreas adacık hücrelerine ek olarak akciğerlerde sentezlendiği gösterilmiştir.⁶ Akciğerlerde NO havayolu epiteli, makrofajlar ve intrapulmoner vasküler endotelyumdan sentezlenmektedir.¹⁴ NO, düz kas hücresine etki ederek vasküler gerilimi azaltıp, pulmoner akımı artırarak ventilasyon perfüzyon oranının uygun düzeyde tutulmasına katkıda bulunur.¹⁵ NO, dolaşımdaki kısa yarı ömrü ve gaz yapısı nedeni ile stabil nitrik oksit metabolitleri (NOx) olan nitrit ve nitrate ok-

side olmakta ve bu bileşikler böbrekler aracılığı ile dışarı atılmaktadır.¹⁶ Nitrit ve nitrat anyonların konsantrasyon ölçümü NO üretiminin kantitatif göstergesi olarak kullanılabilir.

İntravenöz OA verilerek oluşturulan akut akciğer hasarı modeli ile yaptığımız önceki çalışmalarımızda akut akciğer hasarının gelişmiş olduğunu histopatolojik olarak göstermiş ve bu hasarda peroksinitrit'in etkili olduğunu, ayrıca serum total antioksidan kapasitesinin de OA uygulaması ile azaldığını belirlemiştik.¹⁷ OA ile akciğer hasarı oluşturulan modellerde serum nitrik oksit metabolitlerinin ne yönde etkilendiği ve N-Asetilsistein (NAS) tedavisi ile nitrik oksit metabolitlerinde değişiklik olup olmadığını araştırmak amacıyla bu çalışma planlandı.

Çalışmamızda OA kullanarak oluşturulan akciğer hasarında oksidan stress göstergesi olarak stabil nitrit + nitrat düzeyleri ölçüldü. Antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri bilinen NAS'ın, bu metabolit düzeylerini ne yönde etkilediği incelendi.

Gereç ve Yöntemler

Araştırma projesi için Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındı ve çalışma Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi.

Çalışmada ağırlıkları 140-160 gr olan otuz beş adet, Wistar cinsi, dişi sıçan kullanıldı. Deneysel işlem öncesi gece aç bırakılan sıçanlara anestezi için intramüsküler yolla 80 mg/kg dozunda ketamin verildi. Kuyruk veninden 24G branül yerleştirilerek OA ve NAS infüzyonları uygulandı. Denek üzerine yerleştirilen ısıtıcı lamba ile vücut ısısı 36-38°C arasında tutuldu.

Akut akciğer hasarı intravenöz yolla, 100 mg/kg dozunda verilen OA (cis-9-Octadecenoic acid; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Almanya) ile oluşturuldu. OA, etanol içerisinde çözüldürüldükten sonra çözeltiye %0,9 NaCl ilave edilerek konsantrasyonu 25 mg/ml olacak şekilde seyreltildi (etanol/serum fizyolojik oranı: 1/9). Hazırlanan çözelti 5 dakikada intravenöz yolla infüze edildi.²

Her biri 7 hayvandan oluşan 5 grup oluşturuldu. Birinci gruptaki hayvanlara (Sham grubu) serum fizyolojik + etanol (9:1) infüzyonu yapıldı. Normal sıçanlarda NAS'ın beklenmedik bir etkisinin olup olmadığını kontrol etmek amacıyla ikinci gruba (NAS grubu) serum fizyolojik + etanol + NAS verildi. Oleik asitin oluşturduğu akciğer hasarını göstermek amacıyla üçüncü grup oluşturularak (OA grubu), etanol ve serum fizyolojik içerisinde çözündürülmüş OA verildi. Dördüncü gruba (Pre-OA-NAS grubu) OA infüzyonundan 15 dakika önce NAS verilerek OA ile oluşturulan akciğer hasarına karşı NAS'ın koruyucu bir etkisinin olup olmadığı araştırıldı. Beşinci gruba ise (Post-OA-NAS grubu) OA infüzyonundan 2 saat sonra NAS verilerek gelişmiş olan akciğer hasarı üzerinde NAS'ın hasarı geri döndürücü etkisinin olup olmadığı araştırıldı.

NAS verilen sıçanlarda, ¼ oranında serum fizyolojik ile sulandırılan NAS 150 mg/kg dozunda kuyruk veninde bulunan damar yolundan intravenöz yol ile uygulandı.

NAS infüzyonu zamanından bağımsız olarak OA infüzyonundan 4 saat sonra sıçanlara tekrar ketamin ile anestezi verilerek median sternotomi ile göğüs kafesi açıldı. Kalbe ponksiyon yapılarak biyokimyasal analiz için kan örneği alındı.

Serum Nitrit + Nitrat Düzeylerinin Ölçülmesi

Nitrit ve nitrat seviyeleri fotometrik endpoint yöntemi ile belirlendi (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, katalog no: 1 76 281). Test, nikotinamid adenine dinükleotid fosfat (NADPH) kullanarak nitrat redüktaz enzimi varlığında nitratın nitrite redüklenmesi prensibine dayanmaktadır. Oluşan nitrit sulfanilamide ve n-(naftil)-etilendiamin dihidroklorid ile reaksiyona girerek kırmızı-viole diazo boyasını oluşturur. Diazo boyası da görünür alandaki absorpsiyonundan faydalanılarak (550 nm) ölçüldü.

İstatistik Değerlendirme

Serum toplam nitrit + nitrat düzeylerinin karşılaştırılması için tek yönlü varyans analizi ve Tukey post hoc testleri kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama ± standart sapma olarak verildi. p<0.01 düzeyi, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Nitrit + Nitrat düzeyi ortalamaları, standart sapmaları, gruplar içerisindeki minimum ve maksimum değerleri tanımlayıcı istatistikler Tablo 1'de verilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Oleik asit ile oluşturulan ödem ve akciğer hasarı modeli, AAH ve ARDS'nin gelişme mekanizmalarının anlaşılmasında ve yeni tedavi yöntemlerinin araştırılmasında sık olarak kullanılan patolojik bir modeldir.¹⁸⁻²¹ OA ile oluşturulan akciğer hasarı modellerinde oleik asit'in intravenöz yolla verilmesinden kısa bir süre sonra başlangıç hasarı pulmoner vasküler endotel hücrelerinde oluşur ve bunu inflamasyon ve akciğer hasarı takip eder. Bu oksido-inflamatuar sürece alveolo-kapiller membran yapısının bozulması ve permeabilite artışı, intraalveoler ve interstisyel sıvı artışı ve hemoraji, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, oksidan enzimlerin aktivasyonu, sitokin salınımı, adezyon molekülleri ve reaktif oksijen ürünleri üretimi artışının katkıda bulunduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.²²⁻²⁶

NO vazodilatasyon, bronkodilatasyon, nörotransmisyon ve antimikrobiyal savunma mekanizmalarında rol alan önemli bir moleküldür. Fizyolojik düzeylerde NO vasküler ve bronşiyal düz kas relaksasyonunda önemli rol oynamasına rağmen fazla miktarda oluştuğunda oksidan özellikleri nedeniyle doğrudan veya başka inflamatuvar oksidanların sinerjistik etkisi ile doku hasarına yol açabilir.^{27,28} Yapılan çalışmalar deneysel akut akciğer hasarı modellerinde plazmada stabil nitrik oksit

Tablo 1. Deney gruplarında serum nitrit+nitrat düzeyleri (µmol/l)

Gruplar	Ortalama ±SS	Minimum	Maksimum
Sham	22.9±4.3	17.3	29.0
NAS	21.9±4.6	17.2	31.4
OA	31.5±2.5 ^a	28.9	34.8
Pre-OA-NAS	20.7±4.2 ^b	16.6	27.6
Post-OA-NAS	19.1±4.3 ^b	14.3	25.1

F: 9.969, p: 0.000

a: Sham grubu ile kıyaslandığında (p=0.000)

b: OA grubu ile kıyaslandığında (p=0.000)

metabolitleri olan nitrit ve nitrat düzeylerinin artmakta olduğunu göstermiştir.^{29,30}

NAS'ın bir çok deneysel ARDS modelinde in vitro olarak, hipoklorik asit (HOCl), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikali'ni (HO^{*}) temizlediği ve oksidanlara bağlı doku hasarını önlediği gösterilmiştir.³¹⁻³³ NAS'ın bu özelliklerini hem içerdiği sülfidril gruplarının oksijen radikalleri ile tepkimeye girme yeteneğine, hem de dolaylı olarak antioksidan sistemleri indükleyici etkisine bağlı olduğu düşünülmektedir.^{28,32-34} NAS'ın antioksidan özelliklerine ek olarak antiinflamatuvar özellikleri de vardır ve NAS bu özelliklerini sitokinlerin salınımını baskılayarak, adezyon moleküllerinin serbestleşmesini ve nükleer faktör kappa B'yi inhibe ederek göstermektedir.³⁵⁻³⁷

Bu çalışmada nitrik oksit'in stabil metabolitleri olan serum nitrit + nitrat düzeylerinin, OA ile oluşturulan akut akciğer hasarı modelinde arttığı ve NAS ile NOx serum düzeylerinin düştüğü, böylece oluşan oksidatif hasarı önlemede NAS'ın etkili olabileceğini gösterdik. Hem hasar oluşmadan önce koruyucu etkinin olup olmadığının değerlendirildiği pre-OA-NAS grubunda ve hem de oluşan akciğer hasarını düzeltici etkisini araştırmak amacıyla oluşturulan post-OA-NAS grubunda NAS uygulanmasının, NOx serum düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü saptandı. NAS antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri ile akciğer hasarı gelişmiş hastaların tedavisinde kullanımı için ümit vermektedir.

KAYNAKLAR

- Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149(3Pt1): 818-24.
- Hilkner-Silva M, Leme AS, Arantes-Costa FM, Saldiva PHN, Lichtenstein A, Martins MA. Effects of mannitol on the acute lung injury induced by oleic acid in rats. *Shock* 2001; 16(6): 415-8.
- Syrbu S, Thrall RS, Smilowitz HM. Sequential appearance of inflammatory mediators in rat bronchoalveolar lavage fluid after oleic acid-induced lung injury. *Exp Lung Res* 1996; 22:33-49.
- Zhu GF, Sun B, Niu SF, et al. Combined surfactant therapy and inhaled nitric oxide in rabbits with oleic acid-induced acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:2, 437-43.
- Golbidi S, Moriuchi H, Yang C, Irikura M, Irie T, Hamasaki N. Preventive effect of phosphoenolpyruvate on hypoxemia induced by oleic acid in Guinea pigs. *Biol Pharm Bull.* 2003 Mar;26(3):336-40.
- Çalıköğlü İ, Tamer L. Nitrik oksit'in biyokimyası ve aterogenezdeki rolü. *Klinik Laboratuvar Araştırma Dergisi.* 2003; Cilt 7, Sayı:3:89-96.
- Cannon III RO. Role of nitric oxide in cardiovascular disease focus on the endothelium. *Clinical Chemistry.* 1998; 44:8(B): 1809-19.
- Dawson VL, Dawson TM. Physiological and toxicological actions of nitric oxide in the central nervous systems. *Adv Pharmacol* 1995; 34: 323-342.
- Palmer RMJ, Ferring AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6.
- Marin J, Rodriguez-Martinez AM. Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. *Pharmacol Ther.* 1997; Vol:75, no.2: 111-34.
- Kiechle FL, Malinski T. Nitric oxide biochemistry, pathophysiology and detection. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 567-75.
- Violi F, Marino R, Milite MT, Loffredo R. Nitric oxide and its role in lipid peroxidation. *Diabetes Metab Res Rev* 1999; 15: 283-8.
- Buthler AR, Flitney FW, Williams HLD. NO, nitrosonium ions, nitroxide ions, nitrosothiols and iron-nitrosyls in biology: a chemist's perspective. *Tips* January 1995; (16): 18-22.
- Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J, Stamler JS. The biology of nitrogen oxides in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 538-51.
- Frostell CG, Fratacci MD, Wain JC, Jones R, Zapol WM. A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 1991; 83: 2038-47.
- Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum AR. Analysis of nitrate and nitrite and (¹⁵N) nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry* 1982; 126: 131-8.
- Köksel O, Cinel I, Tamer L, et al. N-acetylcysteine inhibits peroxynitrite-mediated damage in oleic acid-induced lung injury. *Pulm Pharmacol Ther.* Available online at "www.sciencedirect.com".
- Schuster DP. ARDS: clinical lessons from oleic acid model of acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149:245-60.
- Putensen C, Rasanen J, Downs JB, Lopez FA. Effect of endogenous and inhaled nitric oxide on the ventilation-perfusion relationships in oleic-acid lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 330-6.
- Shah NS, Nakayama DK, Jacob TD, et al. Efficacy of inhaled nitric oxide in a porcine model of adult respiratory distress syndrome. *Arch Surg* 1994; 129:158-64.

21. Ito Y, Veldhuizen AW, Yao LJ, McCaig LA, Bartlett AJ, Lewis JF. Ventilation strategies affect surfactant aggregate conversion in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:493-9.
22. Weiner RE, Sasso DE, Gionfriddo MA, et al. Early detection of oleic acid-induced lung injury in rats using ¹¹¹In-labeled anti-rat intercellular adhesion molecule-1. *J Nucl Med* 2001; 42:1109-15.
23. Davidson KG, Bersten AD, Barr HA, Dowling KD, Nicholas TE, Doyle IR. Lung function, permeability, and surfactant composition in oleic acid-induced acute lung injury in rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279: L1091-L1102.
24. Syrbu S, Thrall RS, Wisniecki P, Lifchez S, Smilowitz HM. Increased immunoreactive rat lung ICAM-1 in oleic acid-induced lung injury. *Experimental Lung Research* 1995; 21: 599-616.
25. Yang C, Moriuchi H, Takase J, Ishitsuka Y, Irikura M, Irei T. Oxidative stress in early stage of acute lung injury induced with oleic in guinea pigs. *Biol Pharm Bull* 2003; 26(4): 424-8.
26. Balcı AE, Şehitoğulları A, Eren Ş, Büyükbayram H, Eren N. Oleik asit ile oluşturulan akut respiratuar distress sendromunun tedavisinde metilprednizolon etkinliği. *T Klin J Med Sci* 2003, 23:23-6.
27. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol* 1996; 271:C1424-C1437.
28. Grisham MB, Jour'dHeuil D, Wink DA. Nitric oxide. I. Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: implications in inflammation. *Am J Physiol* 1999; 276(2 Pt 1):G315-21.
29. Pedoto A, Nandi J, Yang ZJ, et al. Beneficial effect of hyperbaric oxygen pretreatment on lipopolysaccharide-induced shock in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003; 30(7):482-8.
30. Shimoda K, Murakami K, Enkhbaatar P, et al. Effect of poly(ADP ribose) synthetase inhibition on burn and smoke inhalation injury in sheep. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;285(1):L240-9.
31. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Beutler J. The antioxidant action of *N*-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochloric acid. *Free Radic Biol Med* 1989; 6(6): 593-7.
32. Peristeris P, Clark BD, Gatti S, et al. *N*-acetylcysteine and glutathione as inhibitors of tumor necrosis factor production. *Cell Immunol* 1992; 140: 390-9.
33. Zhang H, Spapen H, Nguyen DN, Benlabed M, Buurman WA, Vincent JL. Protective effects of *N*-acetyl-L-cysteine in endotoxemia. *Am J Physiol* 1994; 266: H1746-54.
34. Sen CK, Rankinen S, Vaisanen S, Rauramaa R. Oxidative stress after human exercise: effect of *N*-acetylcysteine supplementation. *J Appl Physiol* 1994; 76: 2570-7.
35. Tsuji F, Miyake Y, Aono H, Kawashima Y, Mita S. Effects of bucillamine and *N*-acetylcysteine on cytokine production and collagen-induced arthritis. *Clin Exp Immunol* 1999; 115:26-31.
36. Rahman A, Kefer J, Bando M, Niles WD, Malik AB: E-selectin expression in human endothelial cells by TNF- α -induced oxidant generation and NF- κ B activation. *Am J Physiol* 1998; 275:L533-L544.
37. Verhasselt V, Vanden Berghe W, Vanderheyde N: *N*-acetylcysteine inhibits primary human T cell responses at the dendritic cell level: association with NF- κ B inhibition. *J Immunol* 1999; 162:2569-74.