

# Süperoksit Radikali ve Pulmoner Sirkülasyon

A. Tuncay DEMİRYÜREK\*<sup>o</sup>

## Süperoksit Radikali ve Pulmoner Sirkülasyon

**Özet :** Pulmoner endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve akciğer makrofajlarında bazal koşullarda ve stimülasyon ile süperoksit radikali oluştuğu gösterilmiştir. Birçok enzim süperoksit radikali oluşturma yeteneğine sahiptir. Bunlardan en iyi karakterize edilenler arasında ksantin oksidaz, siklooksijenaz, lipoksijenaz, nitrik oksit sentaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz ve indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) oksidaz sayılabilir. Süperoksit radikali endotelten salınan NO ile reaksiyona girip endotel bağımlı gevşemeleri antagonize ederek pulmoner arterlerde kasılmayı destekler. Buna ilaveten süperoksit radikali kalsiyumdan bağımsız olarak pulmoner arterde protein kinaz C aracılıklı kontraksiyon oluşturur. Anestezi altındaki hayvanlarda veya perfüze akciğerlerde ksantin/ksantin oksidazın oluşturduğu pulmoner vazokonstriksiyona tromboksan, lökotrienler ve prostaglandinler de eşlik etmektedir. Süperoksit dismutaz (SOD) spesifik olarak süperoksidi hidrojen perokside dönüştürerek hidroksil radikali ve peroksinitrit oluşumunu önler. Düşük molekül ağırlıklı metalloprotein olan metallothionein ksantin/ksantin oksidaz reaksiyonu ile oluşturulan süperoksit radikalini süpürücü (temizleyici) etki gösterir. Hipoksi spontan süperoksit radikali salınımını azaltır fakat kronik hipoksi uygulaması ksantin oksidaz aktivitesini artırabilir. Hiperoksi reaktif oksijen türleri oluşturarak alveolar epitel hücrelerinde ve pulmoner vasküler endotel hücrelerinde hasar oluşturabilir. Süperoksit radikali akut respiratuar distress sendromu, iskem-reperfüzyon hasarı ve akciğer transplantasyonu gibi pulmoner hastalıklarda da önemli rol oynayabilir. Süperoksit radikali hızla potent etkileri olan hidrojen perokside ve peroksinitrite yıkıldığından, bu ürünler süperoksidin in vivo koşullardaki bazı etkilerinden sorumlu olabilirler. Bugünlerde kabul edilen en geçerli hipotez sağlıklı bir hücrede süperoksit radikali oluşumu ve süpürülmesi arasında optimal bir dengenin olduğudur. Eğer bu denge patolojik koşullarda bozulacak olursa, en iyi terapötik yaklaşım bu dengeyi tekrar kurmak olmalıdır.

**Anahtar kelimeler:** Süperoksit radikali, SOD, pulmoner sirkülasyon, pulmoner hastalıklar.

Received : 13.04.1999

Revised : 13.07.1999

Accepted : 13.07.1999

## Superoxide Radical and Pulmonary Circulation

**Summary :** Pulmonary endothelial cells, smooth muscle cells and lung macrophages have all been shown to generate superoxide radicals, both under basal and stimulated conditions. Many oxidase enzymes are capable of forming superoxide radical; the best characterized are xanthine oxidase, cyclooxygenase, lipoxygenase, nitric oxide synthase, NADPH oxidase and NADH oxidase. The superoxide radical reacts with NO released from the endothelium, thus antagonising endothelium-dependent relaxation and promoting contraction in pulmonary artery rings. Additionally, the superoxide radical can cause contraction of the pulmonary artery through the participation of protein kinase C but not calcium. The pulmonary vasoconstrictor effect of xanthine/xanthine oxidase in anaesthetized animals or in perfused lungs is also associated with the formation of thromboxanes, leukotrienes, and prostaglandins. SOD specifically destroys the superoxide radical by conversion to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, so preventing the production of hydroxyl radical and peroxynitrite. Metallothionein, a low molecular weight metalloprotein, is also able to serve as a scavenger of superoxide radical generated by xanthine/xanthine oxidase. Hypoxia reduces spontaneous superoxide radical formation, but after prolonged hypoxia, xanthine oxidase activity can be upregulated. Hyperoxia damages the epithelial cells of the alveoli and the pulmonary vascular endothelial cells by generation of reactive oxygen species. The superoxide radical may also play a significant role in pulmonary diseases such as acute respiratory distress syndrome, ischaemia-reperfusion injury, and lung transplantation. The superoxide radical decays rapidly to hydrogen peroxide and peroxynitrite, which have potent actions and may be the active forms for some of the effects of the superoxide radical described in vivo. The best working current hypothesis is to assume that in a healthy cell the optimal balance exists between superoxide radical generation and superoxide radical scavenging. If this balance is lost under pathological conditions, the best therapeutic goal would be the restoration of the optimal balance.

**Key words:** Superoxide radical, SOD, pulmonary circulation, pulmonary diseases.

\* Gazi University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology, 06330 Etiler, Ankara, TURKEY.

<sup>o</sup> Correspondence

## Giriş

Pulmoner sirkülasyonda süperoksit radikali enzimatik olarak veya ilaçların hücrel toksisitesi sırasında oluşabilmektedir. Süperoksit radikali negatif yüklü bir moleküldür ve moleküler oksijenin bir elektron redüksiyonu ile oluşmaktadır. Süperoksit radikali yine pulmoner sirkülasyonda yaygın olarak bulunan ve serbest radikal olan nitrik oksit (NO) ile hızlı bir şekilde reaksiyona girerek potent bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur<sup>1</sup>. Bu reaksiyonun hızı süperoksit radikalının Cu-Zn SOD ile olan reaksiyonundan yaklaşık 4 kez daha fazladır. Süperoksit radikali enzimatik veya non-enzimatik olarak hidrojen peroksit, hipokloröz asit, hidroksil radikali, singlet oksijen gibi reaktif oksijen radikalleri veya metabolitlerine dönüşür. Süperoksit radikalının pulmoner sirkülasyondaki rolünün araştırılması serbest radikallerin rol aldığı hem fizyolojik hem de patofizyolojik olayların mekanizmasının aydınlatılması açısından önemlidir.

## Süperoksit radikali oluşumu

Pulmoner sirkülasyonda süperoksit radikali bazal koşullarda oluşmaktadır ve izole pulmoner arterlerden ve akciğer yüzeyinden ölçülebilir. %20 oksijen ile havalandırılmış Krebs ile perfüze sıçan akciğerinde luminol veya lusigenin kemiluminesansı ile akciğer yüzeyinden süperoksit radikali oluşumu ölçülürken, akut hipoksi uygulandığında süperoksit radikali oluşumu azalmaktadır<sup>2-4</sup>.

## Enzimler

Pulmoner endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve akciğer makrofajlarında bazal koşullarda ve stimülasyon ile süperoksit radikali oluştuğu gösterilmiştir<sup>3,5,6</sup>. Birçok enzim süperoksit radikali oluşturma yeteneğine sahiptir. Bunlardan en iyi karakterize edilenler arasında ksantin oksidaz, arazidonik asit peroksidaz, nitrik oksit sentaz (NOS), NADPH oksidaz ve NADH oksidaz sayılabilir.

Ksantin oksidaz vasküler endotelde yüksek konsantrasyonlarda bulunur<sup>7</sup> ve pürinler (hipoksantin ve ksantin) ve NADH oksidasyonu ile süperoksit radikali oluşturur<sup>8</sup>. Pulmoner arter endotelinde düşük pO<sub>2</sub> ksantin oksidaz ve ksantin dehidrojenaz aktivitesi ve transkripsiyonunu artırırken<sup>9,10</sup> hi-

peroksi ksantin dehidrojenaz transkripsiyonunu azaltır<sup>11</sup>. Pulmoner arter endotel hücrelerinde ksantin oksidaz aktivitesinin L-arjinin ile azalırken NG-nitro-L-Arjinin Metil Esteri (L-NAME) ile artması, bu enzimin endotel hücrelerinden salıverilen NO ile negatif bir şekilde regüle edildiğini göstermektedir<sup>12</sup>. Fakat pulmoner arter endotel hücre kültürlerinde yapılan diğer bir çalışmada NO donörünün hücrel süperoksit radikali oluşumunu artırdığı bulunmuştur<sup>13</sup>. Ksantin oksidaz/ksantin dehidrojenaz gen ekspresyonu pulmoner endotel hücrelerine interferon- $\gamma$  uygulanmasıyla yükselmektedir<sup>14</sup>. Pulmoner arter endotel hücrelerinde ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza dönüşümü nötrofil inkübasyonu ile artmaktadır<sup>15</sup>. Karaciğer iskemi reperfüzyonu sirkülasyona önemli miktarda ksantin oksidaz salabilir ve bu ksantin oksidaz akciğerde süperoksit radikali oluşturabilir<sup>16</sup>.

Siklooksijenaz ve lipoksijenaz enzimleri prostaglandin ve lökotrienlerin oluşması sırasında yeterli NADH veya NADPH varlığında süperoksit radikali meydana getirebilirler<sup>17</sup>. Endotel hücre kültürlerinden süperoksit radikali salıverilmesi bradikininle stimüle edilir ve bu stimülasyonun indometazinle azaltılması intakt endotel hücrelerinde süperoksit radikali oluşumunun siklooksijenaz ile fonksiyonel olarak etkileşebileceğini düşündürmektedir<sup>18</sup>.

Hücrel L-arjininin depleksiyonunda NO sentazın süperoksit radikali oluşturma kapasitesinde olduğu bilinmektedir. NOS tarafından süperoksit radikali oluşumu Ca<sup>2+</sup> iyonoforu kalsimisin ile stimüle, L-NAME ile inhibe olmaktadır<sup>19</sup>. Endotelial NOS düşük dansiteli lipoproteinlere maruz kaldığında NO ve süperoksit radikali salabilmektedir<sup>20</sup>.

Fagositik hücrelerde süperoksit radikali oluşumundan sorumlu NADPH oksidaz enzimi pulmoner arter düz kas hücrelerinde de bulunmuştur. Bu enzim dar çaplı pulmoner arter düz kas hücrelerinde hipoksik koşullarda aktive olmaktadır<sup>21</sup>. Pulmoner arter düz kas hücrelerinde mikrozomal NADH oksidaz enzimiyle süperoksit radikali oluştuğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır<sup>22,23</sup>. Pulmoner arter düz kas hücre kültürlerinde süperoksit radikali oluşumu interlökin-1 $\beta$  ile stimüle edilebilmektedir<sup>24</sup>.

Akciğer dokusundaki diğer süperoksit radikali kaynakları mitokondri<sup>4,25</sup> ve sitokrom P450'dir<sup>4</sup>. NADPH oksidaz ve sitokrom P450 oksidazın komponentlerini de içeren birçok hemoproteinleri NO inhibe edebilir<sup>26,27</sup> ve bu enzimlerle süperoksit radikali oluşumunu azaltabilir.

Akciğerdeki fagositik hücreler yüksek miktarda süperoksit radikali oluştururlar ve salıverirler<sup>28</sup>. Alveolar makrofajlar tarafından süperoksit radikali oluşumu pekçok moleküller ve partiküller (asbestos, silika) tarafından stimüle edilir. Lipopolisakkarit tarafından stimüle edilen süperoksit radikali salıverilmesi  $Ca^{2+}$  bağımlıdır ve tirozin kinaz inhibitörü herbimisin tarafından baskılanır<sup>6</sup>. N-formil-metionil-lösil-fenilalanin (FMLP) ile stimüle edilen süperoksit radikali oluşumu interlökin- $1\alpha$  ile ve fosfolipaz  $A_2$  inhibitörleriyle inhibe edilmektedir<sup>29</sup>. Yüksek konsantrasyonlardaki tip 3 ve 4 fosfodiesteraz inhibitörleri alveolar makrofajlardan süperoksit radikali oluşumunu azaltır<sup>30</sup>.

#### İlaçlar

Bazı ilaçların toksisitesinde de süperoksit radikalının rol aldığı bilinmektedir. Paraquat, hüresel diaforazları ve oksijeni kullanarak redoks siklusu aracılığıyla intrasellüler süperoksit radikali oluşturmaktadır. Membran permeabl SOD mimetik metalloporfirin olan Mn(III)tetrakis (4-benzoik asit) porfirin (MnTBAP) endotel hücrelerini paraquatın oluşturduğu hasara karşı korur<sup>31,32</sup>. Adriamisin endoteliyal NOS tarafından indirgenerek süperoksit radikali oluşturabilir<sup>33</sup>.

#### Süperoksit radikalının pulmoner sirkülasyona etkileri

##### Kontraksiyon ve membran permeabilitesi

Süperoksit radikali endotelden salınan NO ile reaksiyona girip endotel bağımlı gevşemeleri antagonize ederek pulmoner arterlerde kasılmayı destekler<sup>34,35</sup>. Yüksek oranda süperoksit radikali oluşumunun stimülasyonu, NO donörlerinin etkilerini antagonize eder<sup>36</sup>. Ksantin oksidaz endotel hücrelerinde  $Ca^{2+}$  sinyalini inhibe ederek NO sentezini düşürebilir<sup>37,38</sup>.

Süperoksit radikali, NO aracılı olmayan me-

kanizmalarla da kontraksiyonu modüle edebilir. Ksantin/ksantin oksidazla oluşan süperoksit radikali endotelden bağımsız olarak pulmoner arterlerde kontraksiyon oluşturur<sup>38,39</sup>. Bu vazokonstriksiyon intrasellüler ve ekstrasellüler kalsiyumdan bağımsızdır ve H-7 ile inhibe edildiğinden etkide protein kinaz C'nin aktivasyonu önemli rol oynamaktadır<sup>40</sup>. Süperoksit radikali sığır pulmoner arter düz kas hücrelerinde mikrozomal ATP-bağımlı  $Ca^{2+}$ -uptake'ini artırmaktadır<sup>41</sup>. Anestezi edilen domuzlarda veya perfüze tavşan akciğerinde ksantin/ksantin oksidazın oluşturduğu pulmoner vazokonstriksiyona tromboksan, lökotrienler ve prostaglandinlerin eşlik ettiği ve D-penisilaminle inhibe olduğu gösterilmiştir<sup>42,43</sup>.

Ksantin/ksantin oksidaz pulmoner arter endotel hücre kültürlerinde  $Na^+/H^+$  antiport aktivitesini inhibe ederken  $Na^+/K^+$  pompasını stimüle eder<sup>44,45</sup>. Pulmoner arter endotel hücre kültürlerinde hiperoksi süperoksit radikali aracılığıyla albumin permeabilitesini artırmıştır ve bu etki SOD ile önlenmiştir<sup>46</sup>.

##### Redoks enzimler ile reaksiyonu

Süperoksit radikali pH 7'de yaklaşık %40 oranında katalaz aktivitesini inhibe eder. Bu inhibisyon süperoksit radikalının katalazdaki  $Fe^{3+}$  merkezinin redüksiyonuyla oluşur ve reaksiyon geri dönüşümlüdür. Bu etkileşim süperoksit radikali ve hidrojen peroksidin her ikisinin de bulunduğu durumlarda neden katalaz ve SOD'un sinerjistik etki gösterdiğini de açıklayabilir<sup>47</sup>.

Süperoksit radikali glutatyon peroksidazın selenyum aktif bölgesini okside ederek aktivitesini azaltır. Ditiyotritol gibi redüktör bileşiklerle inaktive enzimin reaktivasyonu mümkündür<sup>48</sup>. Katalaz ve glutatyon peroksidazın inaktivasyonu hidrojen peroksidin intrasellüler akümüülasyonuna yol açabilir.

Süperoksit radikali oksihemoglobindeki hem bağlı oksijeni redükte eder ve methemoglobin oluşturur. Bu reaksiyon SOD ile önlenir<sup>49</sup>.

##### Hücre proliferasyonu

Süperoksit radikali protein kinaz C aracılığıyla 5-10

dak. içinde Mitojen ile Aktive edilen Protein (MAP) kinaz aktivasyonuna yol açar<sup>50</sup>. Bir kez süperoksit radikali maruziyeti proliferasyonu stimüle ederken uzun süreli maruziyet peroksit akümülyasyonundan dolayı proliferasyonu inhibe eder<sup>51</sup>. Proliferatif faz sırasında hücreden süperoksit radikali salınabilir<sup>52</sup>.

### Gen transkripsiyonu ve DNA

Süperoksit radikali gen transkripsiyonunu çeşitli yollardan modüle edebilir. Guanozin trifosfat (GTP)-bağlayan protein olan Rac-1 yapısal aktif formun geçici ekspresyonunun intrasellüler reaktif oksijen türlerinde anlamlı artışa yol açtığı saptanmıştır<sup>53</sup>. Süperoksit radikalini de içeren oksidanların nükleer faktör kappa B'nin inhibitörü (IkB) ile etkileştiği ve nükleer faktör kappa B (NFkB) aktivasyonuna dolayısıyla gen transkripsiyonuna yol açtığı bildirilmiştir<sup>54</sup>. Hücre içinde oluşması ve hücre fonksiyonları ve gen transkripsiyonu üzerindeki belirgin etkisi nedeniyle süperoksit radikalının intrasellüler sinyal molekülü olarak etki göstermesi olasıdır. Endotel hücrelerinde interlökin-1β tarafından Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 (VCAM-1) gen ekspresyonunun aktivasyonu antioksidanlar tarafından bloke edilmektedir<sup>55</sup>. Dihidroksifumarat ile oluşturulan süperoksit radikali pulmoner arter endotel hücrelerinde ATP depleksiyonuna ve sonuçta hücre lizisine neden olmaktadır<sup>56</sup>. Süperoksit radikalının başlangıçta DNA kırıklarına yolaçtığı ve bunu Poli(ADPriboz) Sentaz (PARS) akümülyasyonu ile birlikte ATP ve NAD<sup>+</sup> depleksiyonunun izlediği sonucuna varılan çalışmada PARS inhibitörleri membran hasarını ve hücre lizisini önlerken DNA kırıklarını engellemiştir<sup>56</sup>.

### Süperoksit radikalının uzaklaştırılması

#### SOD aracılığı ile

SOD spesifik olarak süperoksit radikalini hidrojen perokside dönüştürerek hidroksil radikali ve peroksinitrit oluşumunu önler<sup>57</sup>. SOD akciğerde yaygın olarak birçok hücre tipinde bulunur<sup>58,59</sup>. Akciğerde SOD'un üç izoformu tanımlanmıştır: Cu-Zn SOD, Mn SOD ve ekstrasellüler SOD.

Cu-Zn SOD sitoplazmada lokalize olmuştur ve özellikle pulmoner endotel hücreleri ve vasküler düz

kasda bulunur<sup>60</sup>. Bu enzimin peroksizomlarda lokalize olduğu ve peroksidad aktivitesi olduğu da bildirilmiştir<sup>61,62</sup>.

Mn SOD mitokondrinin iç membranında lokalize olmuştur ve pulmoner arter ve endoteli de içeren mitokondrice zengin hücrelerde yaygın olarak bulunur<sup>58</sup>. Peroksinitrit tarafından Tirozin-34 amino asidinin spesifik bir şekilde nitrasyonu insan Mn SOD'unu inaktive eder<sup>63</sup>. Mn SOD'un nitrasyonu ve inaktivasyonu mitokondriyal süperoksit radikali düzeylerini dramatik olarak artıracak ve daha fazla peroksinitrit oluşumuna ve mitokondriyal proteinlerin nitrasyonu ve oksidasyonuna yol açacaktır. Süperoksit radikali ile direkt inaktivasyona uğrayabilecek mitokondriyal enzimlerin bütünlüğünün korunmasını sağlayarak dokuların normal biyolojik fonksiyonlarının korunması açısından Mn SOD gereklidir. Mn SOD indüklenebilir bir enzimdir ve Tümör Nekrosis Faktör-α (TNF-α) veya interlökin-1 gibi sitokinler diğer antioksidan enzimlerin ekspresyonunu etkilemeksizin spesifik olarak Mn SOD'u indükler<sup>64</sup>.

Ekstrasellüler SOD yapısında Cu-Zn içerir ve in vivo birçok hücrenin glikokaliksine heparan sülfata ve konnektif doku matrisine bağlı olarak bulunur. İnsan ekstrasellüler SOD'u tetramerdir ve üç formda bulunur ve heparine affinitesi bakımından düşük, orta ve yüksek olması açısından sırasıyla A, B, ve C olarak adlandırılır<sup>65</sup>. Ekstrasellüler SOD diğer dokularla karşılaştırıldığında akciğerde yüksek aktiviteye sahiptir<sup>59</sup> ve vasküler dokulardaki SOD'un predominant formudur<sup>57</sup>. Dolayısıyla ekstrasellüler SOD'un fonksiyonu, NO ile süperoksit radikalının reaksiyonunu engellemek ve peroksinitrit oluşumunu önlemek suretiyle vasküler tonusun modülasyonu ile ilişkili olabilir<sup>57</sup>. İnflamatuvar sitokinlerin NFkB aktivasyonu ile sıçan akciğerinde ekstrasellüler SOD'un sekresyonunu upregüle ettiği gösterilmiştir<sup>66</sup>. Ekstrasellüler SOD içermeyen (knock-out) fareler normal olarak gelişmesine karşın >%99 oksijene maruz kaldıklarında ekstrasellüler SOD içermeyen farelerin yaşam sürelerinin kıaldığı ve daha erken şiddetli akciğer ödemi geliştiği gözlenmiştir<sup>67</sup>.

#### Metallothionein ile

Metallothioneinin düşük molekül ağırlıklı sisteince

zengin, kadmiyum gibi ağır metalleri yüksek afinite ile bağlayan, hiperoksi gibi oksidatif stresle indüklenebilen bir metalloproteindir. Metallothioneinin intrasellüler iyon homeostazisinde önemli fonksiyonu olduğu düşünülmekle birlikte *in vivo* ve *in vitro* serbest radikal süpürücüsü olarak da etkilidir<sup>68,69</sup>. Metallothionein pulmoner endotelde bulunur ve oksidan stimullara karşı pulmoner endotel korur. Metallothionein metalden bağımsız bir şekilde peroksil radikali ile etkileşir ve lipid peroksidasyonunu önler<sup>70</sup>. Metallothionein ksantin/ksantin oksidaz reaksiyonu ile oluşturulan süperoksit radikali süpürücü etki gösterir<sup>69</sup>. Fibroblastların kadmiyum ile muamelesi metallothioneinin aşırı ekspresyonuna neden olur ve bu hücrelerde ksantin/ksantin oksidaz ile oluşan reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu hasara karşı anlamlı resistans gelişir<sup>71</sup>.

#### Patolojik olaylarda süperoksit radikali

##### Hipoksi

Hipoksi spontan süperoksit radikali salınımını azaltır<sup>2</sup>. Koyun izole pulmoner arterlerinde SOD akut hipoksik vazokonstriksiyonu etkilememiştir<sup>72</sup>. Kronik hipoksi uygulaması ksantin oksidaz aktivitesini upregüle edebilir. Pulmoner arter endotel hücre kültürlerinde 48 saat hipoksi uygulanmasından sonra ksantin oksidaz aktivitesi artar<sup>9</sup>. Sadece hipoksik koşullarda kültürü yapılan pulmoner arter düz kas hücrelerinde ksantin oksidaz aktivitesinin bulunduğu ve upregülasyonun transkripsiyon düzeyinde olduğu bildirilmiştir<sup>73</sup>. Dolayısıyla hipoksi pulmoner arterlerde süperoksit radikali oluşumunda başlangıçta düşmeye fakat uzun sürede artmaya yol açmaktadır. Pulmoner vasküler endotel hücre kültürleri ksantin oksidazı ekstrasellüler ortama salıverebilirler<sup>74</sup>. 48 saat süreyle hipoksi uygulaması pulmoner arter endotel hücre kültürlerinde lipid peroksidasyonunu artırır<sup>75</sup>.

Süperoksit radikali konsantrasyonu da dahil olmak üzere hipoksiye duyarlı yolaklar tarafından hücreSEL SOD kompleks regülasyona maruz kalır<sup>76</sup>. Hipoksik koşullarda akciğer fibroblastları ve alveolar tip II epitel hücreleri kültürü yapıldığında Cu-Zn SOD ve Mn SOD'un mRNA ekspresyonu azalır. Fakat Cu-Zn SOD ve Mn SOD protein düzeylerinin değişmemesi olayın pretranslasyonel mekanizma ile

regüle edildiğini göstermektedir<sup>77</sup>. Benzer sonuçlar 7 gün boyunca %10 oksijen soluyan transjenik farelerde de gözlenmiştir<sup>78</sup>. Yedi gün boyunca hipoksi/hipoperfüzyon uygulanan tavşan akciğerinde unilateral kollaps oluşmuş, Mn SOD aktivitesi ve protein içeriği azalırken Mn SOD mRNA değişmemiştir<sup>79</sup>. Kronik hipoksik farelerde total akciğer SOD aktivitesi %25 oranında düşmüştür<sup>80</sup>. Pulmoner arter endotel hücre kültürlerinde ise 72 saat hipoksi sonrasında Cu-Zn SOD aktivitesi ELISA ile ölçülmüş ve 2.3 kez arttığı saptanmıştır<sup>76</sup>. Dolayısıyla hipoksi ile SOD regülasyonu hücre tipine göre değişebilmektedir.

##### Hiperoksi

Hiperoksi reaktif oksijen türleri oluşturarak alveolar epitel hücrelerinde ve pulmoner vasküler endotel hücrelerinde hasar oluşturabilmektedir<sup>25,81,82</sup>.

Hiperoksi sıçan akciğerinde ve akciğer endotel hücre kültürlerinde ksantin oksidaz aktivitesini belirgin olarak düşürür<sup>83,84</sup>. Ksantin oksidaz aktivitesinin son ürünü olan ürik asit sıçan akciğerinde hiperoksi ile azalır<sup>83</sup>. Akciğerde ksantin oksidaz aktivitesinin azalması enzimin reaktif oksijen metabolitleri ile inaktivasyonunu yansıtabilir çünkü süperoksidi de içeren kimyasal olarak oluşturulan birçok reaktif oksijen türlerinin purifiye enzimle muamelesi enzimin aktivitesini azaltır<sup>84</sup>. Bu etkinin, oksijen radikallerinin üretimini yüksek olduğu zaman ksantin oksidaz aktivitesini düşürücü negatif feedback mekanizması olabileceğini düşündürmektedir.

Pulmoner Cu-Zn SOD aktivitesi artışı hiperoksinin oluşturduğu akciğer hasarını azaltır<sup>85</sup>. Yapısal olarak yüksek düzeyde Cu-Zn SOD içeren genç transjenik farelerin >%99 oksijene maruz kaldıklarında kontrol farelerle karşılaştırıldığında yaşam oranı artmaktadır. Hiperoksinin sürekli uygulanması ise SOD'da azalmaya yol açmaktadır<sup>86</sup>.

7-14 gün boyunca subletal konsantrasyonda (%85) oksijenin uygulanması pulmoner Mn SOD ve Cu-Zn SOD'un artmasına yol açması<sup>58,87</sup>, daha sonraki letal dozda (>%95) oksijen uygulanmasına karşı resistans oluşturur<sup>88</sup>. Yetişkin sıçanlara 50 saat %100 oksijen uygulanması akciğer hücrelerinde Cu-Zn SOD'u etkilemeden selektif olarak Mn SOD'u dü-

şürmesi<sup>60</sup> pulmoner Mn SOD üzerinde letal dozdaki hiperoksinin (>%95) etkisinin subletal dozdaki hiperoksinin (%85) etkisinden farklı olduğunu gösterir. Sıçanlarda ve maymunlarda akciğer Mn SOD aktivitesi >%95 oksijen uygulanması ile azalır ve aktivitedeki bu azalma bozulmuş translasyondan ve posttranslasyonel etkiden yani düşük spesifik Mn SOD aktivitesinden dolayıdır<sup>89</sup>. Sitokinlerin uygulanması pulmoner antioksidan savunmayı artırarak hiperoksinin etkisine karşı deney hayvanlarında koruma oluşturduğu bulunmuştur<sup>90</sup>. Aşırı Mn SOD ekspresyonlu transjenik farelerin >%99 oksijene maruz kaldığında kontrol farelere göre yaşam zamanını artırmamıştır. %90 oksijene maruz kalındığında ise transjenik farelerde yaşam süresinde ufak fakat anlamlı bir artış olması artan Mn SOD aktivitesinin hiperoksik akciğer hasarına karşı farelerde orta derecede bir koruma oluşturduğunu göstermektedir<sup>91</sup>.

Sıçan akciğerinin hiperoksiye maruz kalması ekstrasellüler SOD enziminin plazma konsantrasyonunu veya dağılımını etkilememiştir<sup>92</sup>.

#### *Akut respiratuar distres sendromu (ARDS)*

Pulmoner sirkülasyondaki nötrofillerin aktivasyonu ile serbest radikallerin artması ve buna ilaveten pulmoner vasküler dokunun antioksidan kapasitenin azalması ARDS'de vasküler endotel hasarına katkıda bulunan başlıca faktörler olarak kabul edilmektedir. ARDS'li hastaların kanından izole edilen lökositler çoğunlukla aktive haldedir ve süperoksit radikali üretiminin artması bu hücrelerin akut akciğer hasarına katkıda bulunabileceklerini düşündürmektedir<sup>93,94</sup>. Ksantin oksidazın substratları olan hipoksantin ve ksantin plazma düzeylerinin ARDS'li hastalarda yüksek olduğunun bulunması süperoksit radikali oluşum potansiyelini daha da artırmaktadır<sup>95</sup>. Deneysel ARDS oluşturmak için forbol miristat asetat veya endotoksin enjeksiyonu yapılan sıçanların akciğerleri in situ olarak sürekli olarak kemiluminesans yöntemiyle monitorize edildiğinde süperoksit radikali oluşumunun arttığı gözlenmiştir<sup>96</sup>.

#### *İskemi-reperfüzyon hasarı*

Tavşan izole perfüze akciğerinin iskemi-reperfüzyonu süperoksit radikali salınımını iki ka-

ına çıkarır, mikrovasküler permeabilityi artırır ve pulmoner ödem oluşturur<sup>97,98</sup>. Sıçan izole akciğerinde iskemi sırasında intrasellüler süperoksit radikali oluşumunun arttığı etidium floresans tekniği ile saptanmıştır<sup>99</sup>. İskemi-reperfüzyon hasarı ksantin oksidaz inhibisyonu veya nötrofil adezyonunun inhibisyonuyla engellenirken<sup>98</sup> sitokrom P450 inhibitörleriyle etkilenmez<sup>100</sup>. İskemi ve reperfüzyon uygulanan perfüze akciğerlerde mangandiaminobenzidin histokimyasal tekniğine göre, pulmoner vasküler endotel hücreleri süperoksit radikali üretiminin majör kaynağıdır<sup>101</sup>. Akciğer perfüzesinde süperoksit radikalinin gösterilmesi reperfüzyonda serbest radikal salınımının endotel kaynaklı olduğunu gösterir<sup>97</sup>.

90 dakika süreyle iskemiye maruz kalmış sıçan perfüze akciğerinde reperfüzyonun otuzuncu dakikasında ve dördüncü saatinde pikler veren vasküler sızıntılar oluşmuştur. İlk pikin aktive akciğer makrofajlarının ürünlerinden dolayı olduğu, ikinci pikin aktive nötrofillerin ürünleri aracılığıyla ortaya çıktığı saptanmıştır<sup>102</sup>. SOD 30 dakikalık iskemi sonrasındaki reperfüzyonun neden olduğu hipoksik pulmoner vazokonstriksiyonun artmasını ve pulmoner kapiller sızıntıyı tamamen önlemiştir<sup>103</sup>. İskemi yapılan fakat oksijenle ventilasyonu sürdürülen sıçan perfüze akciğerinde reaktif oksijen türlerinin oluşumu NADPH oksidaz inhibitörü PR-39 ile önlenmiştir<sup>104</sup>.

#### *Transplantasyon*

Akciğer transplantasyonlu hastalarda akciğer metallothionein düzeyinin yükselmesi süperoksit radikali veya diğer oksidan stresin göstergesi olabilir<sup>105</sup>. Köpek modeli akciğer transplantasyonunda bir hafta sonrasında belirginleşen rejeksiyonun öncesinde ve reimplantasyonun 1-24 saatlerinde belirgin nötrofil influksi bulunmaktadır<sup>106</sup>. Sıçan akciğer transplantasyonundan sonraki 7 günde histolojik olarak belirlenen rejeksiyon SOD tarafından azaltılır<sup>107</sup>. Serbest radikal süpürücüsü thioredoksin köpeklerde akciğer transplantasyonunu izleyen histolojik hasarı önlemiş ve akciğer fonksiyonunu geliştirmiştir<sup>108</sup>. Köpeklerde akciğer transplantasyonundan sonra pulmoner arter gevşemeleri inhibe olmuştur ve bu etki SOD veya oksipurinol ile geri döndürülmüştür<sup>109</sup>.

## Sonuç

Süperoksit radikalının konsantrasyona bağlı olarak pulmoner sirkülasyonda kontraksiyon oluşturmaları, permeabiliteyi artırması, enzimlerle reaksiyona girmesi, hücre proliferasyonu ve DNA üzerinde etkin olması gibi etkilerine ek olarak hipoksi, hiperoksi, ARDS, iskemi-reperfüzyon hasarı ve akciğer transplantasyonu gibi patolojik olaylarda da rolü bulunmaktadır. Birçok patolojik olayda kendisinin direkt etkisi yanında in vivo koşullarda süperoksit radikalından türeyen diğer radikallerin ve metabolitlerin de rolü olabileceği ortadadır.

Süperoksit radikalının intrasellüler sinyal iletiminde rol oynadığının belirlenmesi<sup>110</sup> bu radikalın her zaman hasar oluşturuca etkiye aracılık etmediğini ortaya koymaktadır. Son yıllarda süperoksit radikali ile ilgili görüş değişmiş ve tamamen uzaklaştırılması yerine uygun bir dengede olması gerektiği görüşü yaygın hale gelmiştir. Günümüzdeki en geçerli hipotez sağlıklı bir hücrede süperoksit radikali oluşumu ve süpürülmesi arasında optimal bir dengenin olduğu şeklindedir<sup>111</sup>. Eğer bu denge patolojik durumlarda bozuluyorsa, en iyi terapötik yaklaşım optimal dengenin yeniden sağlanması şeklinde olmalıdır.

## Kaynaklar

- 1- Demiryürek AT, Çakıcı İ, Kanık İ. Peroxynitrite: A putative cytotoxin, *Pharmacol. Toxicol.*, 82, 113-117, 1998.
- 2- Archer SL, Nelson DP, Weir EK. Simultaneous measurement of O<sub>2</sub> radicals and pulmonary vascular reactivity in rat lung, *J. Appl. Physiol.*, 67, 1903-1911, 1989.
- 3- Barnard ML, Robertson B, Watts BP, Turrens JF. Role of nitric oxide and superoxide anion in spontaneous lung chemiluminescence, *Am. J. Physiol.*, 272, L262-L267, 1997.
- 4- Paky A, Michael JR, Burke-Wolin TM, Wolin MS, Gurtner GH. Endogenous production of superoxide by rabbit lungs: effects of hypoxia or metabolic inhibitors, *J. Appl. Physiol.*, 74, 2868-2874, 1993.
- 5- Yang W, Block ER. Effect of hypoxia and regeneration on the formation and release of reactive oxygen species by porcine pulmonary artery cells, *J. Cell. Physiol.*, 164, 414-423, 1995.
- 6- Jian Z-J, Yang Z, Mason GL, Slauson DO, Bochsler PN. Regulation of superoxide anion generation in bovine alveolar macrophages by bacterial lipopolysaccharide, serum proteins, and modulators of signal transduction, *Inflammation*, 19, 637-650, 1995.
- 7- Jarasch ED, Bruder G, Heid HW. Significance of xanthine oxidase in capillary endothelial cells, *Acta*

*Physiol. Scand.*, Supp 548, 39-46, 1986.

- 8- Sanders SA, Eienthal R, Harrison R. NADH oxidase activity of human xanthine oxidoreductase: Generation of superoxide anion, *Eur. J. Biochem.*, 245, 541-548, 1997.
- 9- Terada LS, Guidot DM, Leff JA, Willingham IR, Hanley ME, Piermattei D, Repine JE. Hypoxia injures endothelial cells by increasing endogenous xanthine oxidase activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 3362-3366, 1992.
- 10- Hassoun PM, Yu FS, Zulueta JJ, White AC, Lanzillo JJ. Effect of nitric oxide and cell redox status on the regulation of endothelial cell xanthine dehydrogenase, *Am. J. Physiol.*, 268, L809-L817, 1995.
- 11- Lanzillo JJ, Yu FS, Stevens J, Hassoun PM. Determination of xanthine dehydrogenase mRNA by a reverse transcription-coupled competitive quantitative polymerase chain reaction assay: Regulation in rat endothelial cells by hypoxia and hyperoxia, *Arch. Biochem. Biophys.*, 335, 377-380, 1996.
- 12- Cote CG, Yu FS, Zulueta JJ, Vosatka RJ, Hassoun PM. Regulation of intracellular xanthine oxidase by endothelial-derived nitric oxide, *Am. J. Physiol.*, 271, L869-L874, 1996.
- 13- Sheehy AM, Burson MA, Black SM. Nitric oxide exposure inhibits endothelial NOS activity but not gene expression: a role for superoxide, *Am. J. Physiol.*, 274, L833-L841, 1998.
- 14- Dupont GP, Huecksteadt TP, Marshall BC, Ryan US, Michael JR, Hoidal JR. Regulation of xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activity and gene expression in cultured rat pulmonary endothelial cells, *J. Clin. Invest.*, 89, 197-202, 1992.
- 15- Phan SH, Gannon DE, Varani J, Ryan US, Ward PA. Xanthine oxidase activity in rat pulmonary artery endothelial cells and its alteration by activated neutrophils, *Am. J. Pathol.*, 134, 1201-1211, 1989.
- 16- Weinbroum A, Nielsen VG, Tan S, Gelman S, Matalon S, Skinner KA, Bradley E, Parks DA. Liver ischemia-reperfusion increases pulmonary permeability in rat: Role of circulating xanthine oxidase, *Am. J. Physiol.*, 31, G988-G996, 1995.
- 17- Kukreja RC, Kontos HA, Hess ML, Ellis EF. PGH synthase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NADH or NADPH, *Circ. Res.*, 59, 612-619, 1986.
- 18- Holland JA, Pritchard KA, Pappolla MA, Wolin MS, Rogers NJ, Stemerman MB. Bradykinin induces superoxide anion release from human endothelial cells, *J. Cell. Physiol.*, 143, 21-25, 1990.
- 19- Xia Y, Dawson VL, Dawson TM, Snyder SH, Zweier JL. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 6770-6774, 1996.
- 20- Pritchard KA, Groszek L, Smalley DM, Sessa WC, Wu M, Villalon P, Wolin MS, Stemerman MB. Native low-density lipoprotein increases endothelial cell nitric oxide synthase generation of superoxide anion, *Circ. Res.*, 77, 510-518, 1995.
- 21- Marshall C, Marmay AJ, Verhoeven AJ, Marshall BE. Pulmonary artery NADPH-oxidase is activated in

- hypoxic pulmonary vasoconstriction, *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 15, 633-644, 1996.
- 22- Mohazzab-H KM, Wolin MS. Sites of superoxide anion production detected by lucigenin in calf pulmonary artery smooth muscle, *Am. J. Physiol.*, 267, L815-L822, 1994.
  - 23- Mohazzab-H KM, Wolin MS. Properties of a superoxide anion-generating microsomal NADH oxidoreductase, a potential pulmonary artery PO<sub>2</sub> sensor, *Am. J. Physiol.*, 267, L823-L831, 1994.
  - 24- Boota A, Zar H, Kim YM, Johnson B, Pitt B, Davies P. IL-1 beta stimulates superoxide and delayed peroxynitrite production by pulmonary vascular smooth muscle cells, *Am. J. Physiol.*, 271, L932-L938, 1996.
  - 25- Freeman BA, Crapo JD. Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lungs and lung mitochondria, *J. Biol. Chem.*, 256, 10986-10992, 1981.
  - 26- Clancy RM, Leszczynska-Piziak J, Abramson SB. Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the NADPH oxidase, *J. Clin. Invest.*, 90, 1116-1121, 1992.
  - 27- Puntarulo S, Cederbaum AI. Production of reactive oxygen species by microsomes enriched in specific human cytochrome P450 enzymes, *Free Rad. Biol. Med.*, 24, 1324-1330, 1998.
  - 28- Cross AR, Jones OTG. Enzyme mechanisms of superoxide production, *Biochem. Biophys. Acta*, 1057, 281-298, 1991.
  - 29- Mugnai S, Ciuffi M, Maurizi M, Bindi D, Franchi-Micheli S, Ziletti L. Influence of interleukin 1 alpha on superoxide anion, platelet activating factor release and phospholipase A<sub>2</sub> activity in naïve and sensitized guinea-pig alveolar macrophages, *Br. J. Pharmacol.*, 122, 1345-1352, 1997.
  - 30- Takei K, Tokuyama K, Kato M, Morikawa A. Role of cyclic adenosine monophosphate in reducing superoxide anion generation in guinea pig alveolar macrophages, *Pharmacology*, 57, 1-7, 1998.
  - 31- Day BJ, Shawen S, Liochev SI, Crapo JD. A metalloporphyrin superoxide dismutase mimetic protects against paraquat-induced endothelial cell injury, *in vitro*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 275, 1227-1232, 1995.
  - 32- Day BJ, Crapo JD. A metalloporphyrin superoxide dismutase mimetic protects against paraquat-induced lung injury *in vivo*, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 140, 94-100, 1996.
  - 33- Vasquez-Vivar J, Martasek P, Hogg N, Masters BS, Pritchard KA, Kalyanaraman B. Endothelial nitric oxide synthase-dependent superoxide generation from adriamycin, *Biochemistry*, 36, 11293-11297, 1997.
  - 34- Cherry PD, Omar HA, Farrell KA, Stuart JS, Wolin MS. Superoxide anion inhibits cGMP-associated bovine pulmonary arterial relaxation, *Am. J. Physiol.*, 259, H1056-H1062, 1990.
  - 35- Liu Q, Wiener CM, Flavahan NA. Superoxide and endothelium-dependent constriction to flow in porcine small pulmonary arteries, *Br. J. Pharmacol.*, 124, 331-336, 1998.
  - 36- Marczin N, Ryan US, Catravas JD. Methylene blue inhibits nitrovasodilator- and endothelium-derived relaxing factor-induced cyclic GMP accumulation in cultured pulmonary arterial smooth muscle cells via generation of superoxide anion, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 263, 170-179, 1992.
  - 37- Wesson DE, Elliott SJ. Xanthine oxidase inhibits transmembrane signal transduction in vascular endothelial cells, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 270, 1197-1207, 1994.
  - 38- Wiklund L, McGregor CGA, Miller VM. Effects of prolonged exposure to oxygen-derived free radicals in canine pulmonary arteries, *Am. J. Physiol.*, 270, H2184-H2190, 1996.
  - 39- Rhoades RA, Packer CS, Roepke DA, Jin N, Meiss RA. Reactive oxygen species alter contractile properties of pulmonary arterial smooth muscle cells, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 68, 1581-1589, 1990.
  - 40- Jin N, Packer CS, Rhoades RA. Reactive oxygen-mediated contraction in pulmonary arterial smooth muscle: cellular mechanisms, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 69, 383-388, 1991.
  - 41- Chakraborti T, Ghosh SK, Michael JR, Chakraborti S. Role of an aprotinin-sensitive protease in the activation of Ca<sup>2+</sup>-ATPase by superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) in microsomes of pulmonary vascular smooth muscle, *Biochem. J.*, 317, 885-890, 1996.
  - 42- Tate RM, Morris HG, Schroeder WR, Repine JE. Oxygen metabolites stimulate thromboxane production and vasoconstriction in isolated saline-perfused rabbit lungs, *J. Clin. Invest.*, 74, 608-613, 1984.
  - 43- Sanderud J, Oroszlan G, Bjoro K, Kumlin M, Saugstad OD. D-penicillamine inhibits the action of reactive oxygen species in the pig pulmonary circulation, *J. Perinat. Med.*, 23, 385-393, 1995.
  - 44- Cutaia M, Parks N. Effect of hyperoxia and exogenous oxidant stress on pulmonary artery endothelial cell Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport activity, *J. Lab. Clin. Med.*, 128, 154-164, 1996.
  - 45- Rounds S, Cutaia M, Charles A, Meharg J, Dawicki D, Oldmixon E, Kuhn C. Oxidant stress stimulates Na/K pump activity in bovine pulmonary arterial endothelial cells, *Chest*, 114 Suppl, 22S-24S, 1998.
  - 46- Payne KD, Owens MW, Grisham M. Early albumin leakage in pulmonary endothelial monolayers exposed to varying levels of hyperoxia. *Free Rad. Res.*, 25, 229-238, 1996.
  - 47- Kono Y, Fridovich I. Superoxide radical inhibits catalase, *J. Biol. Chem.*, 257, 5751-5754, 1982.
  - 48- Blum J, Fridovich I. Inactivation of glutathione peroxidase by superoxide radical, *Arch. Biochem. Biophys.*, 240, 500-508, 1985.
  - 49- Lynch RE, Lee R, Cartwright GE. Inhibition by superoxide dismutase of methemoglobin formation from oxyhemoglobin, *J. Biol. Chem.*, 251, 1015-1019, 1976.
  - 50- Baas AS, Berk BC. Differential activation of mitogen-activated protein kinases by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>•-</sup> in vascular smooth muscle, *Circ. Res.*, 77, 29-36, 1995.
  - 51- Li PF, Dietz R, von Harsdorf R. Differential effect of hydrogen peroxide and superoxide anion on apoptosis and proliferation of vascular smooth muscle cells, *Circulation*, 96, 3602-3609, 1997.
  - 52- Arnal JF, Tack I, Bescombes JP, Pipy B, Nègre-



- Salvayre A. Nitric oxide and superoxide anion production during endothelial cell proliferation, *Am. J. Physiol.*, 271, C1521-C1526, 1996.
- 53- Sundaresan M, Yu ZX, Ferrans VJ, Sulciner DJ, Gutkind JS, Irani K, Goldschmidt-Clermont PJ, Finkel T. Regulation of reactive-oxygen-species generation in fibroblasts by Rac1, *Biochem. J.*, 318, 379-382, 1996.
- 54- Schreck R, Baeuerle PA. Assessing oxygen radicals as mediators in activation of inducible eukaryotic transcription factor NF-kappa B, *Methods Enzymol.*, 234, 151-163, 1994.
- 55- Marui N, Offermann MK, Swerlick R, Kunsch C, Rosen CA, Ahmad M, Alexander RW, Medford RM. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells, *J. Clin. Invest.*, 92, 1866-1874, 1993.
- 56- Thies RL, Autor AP. Reactive oxygen injury to cultured pulmonary artery endothelial cells: mediation by poly(ADP-ribose) polymerase activation causing NAD depletion and altered energy balance, *Arch. Biochem. Biophys.*, 286, 353-363, 1991.
- 57- Oury TD, Day BJ, Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase: a regulator of nitric oxide bioavailability, *Lab. Invest.*, 75, 617-636, 1996.
- 58- Chang LY, Kang BH, Slot JW, Vincent R, Crapo JD. Immunocytochemical localization of the sites of superoxide dismutase induction by hyperoxia in rat lungs, *Lab. Invest.*, 73, 29-39, 1995.
- 59- Oury TD, Chang LY, Marklund SL, Day BJ, Crapo JD. Immunocytochemical localization of extracellular superoxide dismutase in human lung, *Lab. Invest.*, 70, 889-898, 1994.
- 60- Lee CY, Pastore JN, Tang G, Tsan MF. Cellular distribution of pulmonary Mn and CuZn superoxide dismutase: Effect of hyperoxia and interleukin-1, *J. Histochem. Cytochem.*, 42, 1201-1205, 1994.
- 61- Yim MB, Chock PB, Stadtman ER. Copper, zinc superoxide dismutase catalyzes hydroxyl radical production from hydrogen peroxide, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 5006-5010, 1990.
- 62- Keller G-A, Warner TG, Steimer KS, Hallewell RA. Cu,Zn superoxide dismutase is a peroxisomal enzyme in human fibroblasts and hepatoma cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 7381-7385, 1991.
- 63- Yamakura F, Taka H, Fujimura T, Murayama K. Inactivation of human manganese-superoxide dismutase by peroxynitrite is caused by exclusive nitration of tyrosine 34 to 3-nitrotyrosine, *J. Biol. Chem.*, 273, 14085-14089, 1998.
- 64- Tsan MF, White JE, Del Vecchio PJ, Shaffer JB. IL-6 enhances TNF- $\alpha$  and IL-1-induced increase of Mn superoxide dismutase mRNA and O<sub>2</sub> tolerance, *Am. J. Physiol.*, 263, L22-L26, 1992.
- 65- Sandström J, Karlsson K, Edlund T, Marklund SL. Heparin-affinity patterns and composition of extracellular superoxide dismutase in human plasma and tissues, *Biochem. J.*, 294, 853-857, 1993.
- 66- Brady TC, Chang LY, Day BJ, Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase is upregulated with inducible nitric oxide synthase after NF- $\kappa$ B activation, *Am. J. Physiol.*, 273, L1002-L1006, 1997.
- 67- Carlsson LM, Jonsson J, Edlund T, Marklund SL. Mice lacking extracellular superoxide dismutase are more sensitive to hyperoxia, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 6264-6268, 1995.
- 68- Sato M, Bremner I. Oxygen free radicals and metallothionein, *Free Rad. Biol. Med.*, 14, 325-337, 1993.
- 69- Camhi SL, Lee P, Choi AMK. The oxidative stress response, *New Horiz.*, 3, 170-182, 1995.
- 70- Pitt BR, Schwarz M, Woo ES, Yee E, Wasserloos K, Tran S, Weng W, Mannix RJ, Watkins SA, Tyurina YY, Tyurin VA, Kagan VE, Lazo JS. Overexpression of metallothionein decreases sensitivity of pulmonary endothelial cells to oxidant injury, *Am. J. Physiol.*, 273, L856-L865, 1997.
- 71- Hart BA, Prabhu RM, Eneman JD, Durieux-Lu CC, Janssen AM, Borm PJ. Oxidant resistance of cadmium-adapted human lung fibroblasts, *Toxicology*, 98, 1-13, 1995.
- 72- Demiryürek AT, Wadsworth RM, Kane KA. Pharmacological evidence for the role of mediators in hypoxia-induced vasoconstriction in sheep isolated intrapulmonary artery rings, *Eur. J. Pharmacol.*, 203, 1-8, 1991.
- 73- Hassoun PM, Yu FS, Shedd AL, Zulueta JJ, Thannickal VJ, Lanzillo JJ, Fanburg BL. Regulation of endothelial cell xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase gene expression by oxygen tension, *Am. J. Physiol.*, 266, L163-L171, 1994.
- 74- Partridge CA, Blumenstock FA, Malik MA. Pulmonary vascular endothelial cells constitutively release xanthine oxidase, *Arch. Biochem. Biophys.*, 294, 184-187, 1992.
- 75- Block ER, Patel JM, Edwards D. Mechanism of hypoxic injury to pulmonary artery endothelial cell plasma membranes, *Am. J. Physiol.*, 257, C223-C231, 1989.
- 76- Kong X-J, Fanburg BL. Regulation of Cu,Zn-superoxide dismutase in bovine pulmonary artery endothelial cells, *J. Cell. Physiol.*, 153, 491-497, 1992.
- 77- Jackson RM, Parish G, Ho Y-S. Effects of hypoxia on expression of superoxide dismutases in cultured A7II cells and lung fibroblasts, *Am. J. Physiol.*, 271, L955-L962, 1996.
- 78- Russell WJ, Ho Y-S, Parish G, Jackson RM. Effects of hypoxia on MnSOD expression in mouse lung, *Am. J. Physiol.*, 269, L221-L226, 1995.
- 79- Russell WJ, Jackson RM. MnSOD protein content changes in hypoxic/hypoperfused lung tissue, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 9, 610-616, 1993.
- 80- Liu J, Simon LM, Phillips JR, Robin ED. Superoxide dismutase (SOD) activity in hypoxic mammalian systems, *J. Appl. Physiol.*, 42, 107-110, 1977.
- 81- Sjöstrom K, Crapo JD. Structural and biochemical adaptive changes in rat lungs after exposure to hypoxia, *Lab. Invest.*, 48, 68-79, 1983.
- 82- Freeman BA, Mason RJ, Williams MC, Crapo JD. Antioxidant enzyme activity in alveolar Type II cells after exposure of rats to hyperoxia, *Exp. Lung Res.*, 10, 203-222, 1986.
- 83- Elsayed NM, Tierney DF. Hyperoxia and xanthine dehydrogenase/oxidase activities in rat lung and

- heart, *Arch. Biochem. Biophys.*, 273, 281-286, 1989.
- 84- Terada LS, Beehler CJ, Banerjee A, Brown JM, Grosso MA, Harken AH, McCord JM, Repine JE. Hyperoxia and self- or neutrophil-generated O<sub>2</sub> metabolites inactivate xanthine oxidase, *J. Appl. Physiol.*, 65, 2349-2353, 1988.
  - 85- Robbins CG, Horowitz S, Merritt TA, Kheiter A, Tierney J, Narula P, Davis JM. Recombinant human superoxide dismutase reduces lung injury caused by inhaled nitric oxide and hyperoxia, *Am. J. Physiol.*, 272, L903-L907, 1997.
  - 86- White CW, Avraham KB, Shanley PF, Groner Y. Transgenic mice with expression of elevated levels of copper-zinc superoxide dismutase in the lungs are resistant to pulmonary oxygen toxicity, *J. Clin. Invest.*, 87, 2162-2168, 1991.
  - 87- Vincent R, Chang L-Y, Slot JW, Crapo JD. Quantitative immunocytochemical analysis of Mn SOD in alveolar type II cells of the hyperoxic rat, *Am. J. Physiol.*, 267, L475-L481, 1994.
  - 88- Tsan MF. Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 214, 107-113, 1997.
  - 89- Clerch LB, Massaro D, Berkovich A. Molecular mechanisms of antioxidant enzyme expression in lung during exposure to and recovery from hyperoxia, *Am. J. Physiol.*, 274, L313-L319, 1998.
  - 90- White CW, Ghezzi P, McMahon S, Dinarello CA, Repine JE. Cytokines increase rat lung antioxidant enzymes during exposure to hyperoxia, *J. Appl. Physiol.*, 66, 1003-1007, 1989.
  - 91- Ho YS, Vincent R, Dey MS, Slot JW, Crapo JD. Transgenic models for the study of lung antioxidant defense: Enhanced manganese-containing superoxide dismutase activity gives partial protection to B6C3 hybrid mice exposed to hyperoxia, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 18, 538-547, 1998.
  - 92- Loenders B, Mechelen EV, Nicolai S, Buysens N, Osseleer NV, Jorens PG, Willems J, Herman AG, Slegers H. Localization of extracellular superoxide dismutase in rat lung: neutrophils and macrophages as carriers of the enzyme, *Free Rad. Biol. Med.*, 24, 1097-1106, 1998.
  - 93- Weiland JE, Davis WB, Holter JF, Mohammed JR, Dorinsky PM, Gadek JE. Lung neutrophils in the adult respiratory distress syndrome. Clinical and pathophysiologic significance, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 133, 218-225, 1986.
  - 94- Laurent T, Markert M, Feihl F, Schaller M-D, Perret C. Oxidant-antioxidant balance in granulocytes during ARDS. Effect of N-acetylcysteine, *Chest*, 109, 163-166, 1996.
  - 95- Quinlan GJ, Lamb NJ, Tilley R, Evans TW, Gutteridge JMC. Plasma hypoxanthine levels in ARDS: Implications for oxidative stress, morbidity, and mortality, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 155, 479-84, 1997.
  - 96- Takahashi A, Nakano M, Mashiko S, Inaba H. The first observation of O<sub>2</sub><sup>•-</sup> generation in situ lungs of rats treated with drugs to induce experimental acute respiratory distress syndrome, *FEBS Lett.*, 261, 369-372, 1990.
  - 97- Kennedy TP, Rao NV, Hopkins C, Pennington L, Tolley E, Hoidal JR. Role of reactive oxygen species in reperfusion injury of the rabbit lung, *J. Clin. Invest.*, 83, 1326-1335, 1989.
  - 98- Adkins WK, Taylor AE. Role of xanthine oxidase and neutrophils in ischemia-reperfusion injury in rabbit lung, *J. Appl. Physiol.*, 69, 2012-2018, 1990.
  - 99- Al-Mehdi AB, Shuman H, Fisher AB. Intracellular generation of reactive oxygen species during non-hypoxic lung ischemia, *Am. J. Physiol.*, 272, L294-L300, 1997.
  - 100- Bysani GK, Kennedy TP, Ky N, Rao NV, Blaze CA, Hoidal JR. Role of cytochrome P-450 in reperfusion injury of the rabbit lung, *J. Clin. Invest.*, 86, 1434-1441, 1990.
  - 101- Babbs CF, Cregor MD, Turek JJ, Badylak SF. Endothelial superoxide production in buffer perfused rat lungs, demonstrated by a new histochemical technique, *Lab. Invest.*, 65, 484-496, 1991.
  - 102- Eppinger MJ, Deeb GM, Bolling SF, Ward PA. Mediators of ischemia-reperfusion injury of rat lung, *Am. J. Pathol.*, 150, 1773-1784, 1997.
  - 103- Messent M, Griffiths MJD, Quinlan GJ, Gutteridge JMC, Evans TW. Ischaemia-reperfusion injury in the rat is modulated by superoxide generation and leads to an augmentation of the hypoxic pulmonary vascular response, *Clin. Sci.*, 90, 47-54, 1996.
  - 104- Al-Mehdi AB, Zhao G, Dodia C, Tozawa K, Costa K, Muzykantov V, Ross C, Blecha F, Dinauer M, Fisher AB. Endothelial NADPH oxidase as the source of oxidants in lungs exposed to ischemia or high K<sup>+</sup>, *Circ. Res.*, 83, 730-737, 1998.
  - 105- Courtade M, Carrera G, Paternain JL, Martel S, Carre PC, Folch J, Pipy B, Toulouse Lung Transplantation Group. Metallothionein expression in human lung and its varying levels after lung transplantation, *Chest*, 113, 371-378, 1998.
  - 106- Adoumie R, Serrick C, Giaid A, Shennib H. Early cellular events in the lung allograft, *Ann. Thorac. Surg.*, 54, 1071-1076, 1992.
  - 107- Shiraishi T, Kuroiwa A, Shirakusa T, Kawahara K, Yoneda S, Kitano K, Okabayashi K, Iwasaki A. Free radical-mediated tissue injury in acute lung allograft rejection and the effect of superoxide dismutase, *Ann. Thorac. Surg.*, 64, 821-825, 1997.
  - 108- Yagi K, Liu CJ, Bando T, Yokomise H, Inui K, Hitomi S, Wada H. Inhibition of reperfusion injury by human thioredoxin (adult T-cell leukemia-derived factor) in canine lung transplantation, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 108, 913-921, 1994.
  - 109- Seki S, Flavahan NA, Smedira NG, Murray PA. Superoxide anion scavengers restore NO-mediated pulmonary vasodilation after lung transplantation, *Am. J. Physiol.*, 45, H42-H46, 1999.
  - 110- Finkel T. Oxygen radicals and signaling, *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 10, 248-253, 1998.
  - 111- McCord JM. Superoxide radical: controversies, contradictions, and paradoxes, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 209, 112-117, 1995.