

Οξειδωτικό stress και παθήσεις του πνεύμονα

Ε. Γερογιάννη,
Κ.Ι. Γουργουλιάνης

Πνευμονολογική Κλινική, Νοσοκομείο
Λάρισας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Λάρισα

Oxidative stress and lung diseases

Abstract at the end of the article

Ελεύθερη ρίζα είναι ένα άτομο ή ένα σύνολο ατόμων με ένα ή περισσότερα αζευγάρωτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τροχιά τους. Οι βιολογικά ελεύθερες ρίζες περιλαμβάνουν το οξυγόνο, τον άνθρακα, το άζωτο και το χλώριο στο μόριό τους. Διακρίνονται πέντε σημεία παραγωγής ριζών μέσα στο κύτταρο: η κυτταρική μεμβράνη, τα μιτοχόνδρια, τα υπεροξειδωμάτια, το ενδοπλάσματικό δίκτυο και το κυτταρόπλασμα. Η συνεχής αυτή παραγωγή των ελευθέρων ριζών βρίσκεται, υπό φυσιολογικές συνθήκες, κάτω από έλεγχο από το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα του ανθρώπινου οργανισμού. Ως οξειδωτικό stress ορίζεται το χημικό stress που προκύπτει είτε από την υπερβολική παραγωγή ελευθέρων ριζών είτε από την ανικανότητα του αντιοξειδωτικού συστήματος να ανταποκριθεί. Ο πνεύμονας αποτελεί το κατεξοχήν όργανο που εκτίθεται σε οξειδωτικό stress λόγω της άμεσης έκθεσής του σε υψηλές πιέσεις οξυγόνου. Μια ποικιλία πνευμονικών παθήσεων φαίνεται να συνδέεται με τις ελεύθερες ρίζες, όπως οι αποφρακτικές παθήσεις, οι διάμεσες πνευμονοπάθειες, η σαρκοείδωση και άλλες κοκκιωματώδεις νόσοι, η αμιάντωση και ο καρκίνος του πνεύμονα. Ειδικά για την τελευταία νόσο, φαίνεται ότι οι ενεργείς ρίζες του οξυγόνου συνδέονται τόσο με την καρκινογένεση όσο και με την ανάπτυξη του καρκίνου, όπως έχουν δείξει πολλοί μελέτες.

Λέξεις ευρετηρίου

Αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα
Ελεύθερες ρίζες
Οξειδωτικό stress
Παθολογία πνευμονικών παθήσεων

Υποβλήθηκε 4.4.2005
Εγκρίθηκε 13.6.2005

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ελεύθερη ρίζα είναι ένα άτομο ή μια ομάδα ατόμων με ένα ή περισσότερα αζευγάρωτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τροχιά τους. Η οντότητα αυτή μπορεί να είναι είτε ουδέτερη είτε φορτισμένη. Το αζευγάρωτο ηλεκτρόνιο των ελευθέρων ριζών είναι συνήθως εξαιρετικά ανταλλάξιμο, γεγονός που αποτελεί τη χημική και τη φυσική αιτία για τη δραστηριότητα και την αστάθεια των περισσότερων ελευθέρων ριζών. Στην πραγματικότητα, μια ελεύθερη ρίζα (με ένα αζευγάρωτο ηλεκτρόνιο), ανάλογα με την αναγωγική/οξειδωτική της ικανότητα, τείνει να αποσπά ένα ηλεκτρόνιο από ένα γειτονικό μόριο για να αποκτήσει δική της σταθερότητα και το μόριο-στόχος, με τη σειρά του, γίνεται μια νέα ρίζα. Υποστηρίζεται ότι η δραστηριότητα των ελευθέρων ριζών εξαρτάται από τη σχέση όγκου/επιφάνειας. Με αυτό το δεδομένο, η ρίζα του υδροξυλίου (OH^\cdot) θεωρείται μια πολύ δραστήρια ρίζα.

Γενικά, οι οξειδωτικές ρίζες ταξινομούνται με βάση το χημικό στοιχείο που έχει το αζευγάρωτο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική τροχιά του. Αν δηλαδή η εξωτερική στιβάδα μιας ελεύθερης ρίζας ανήκει στο χλώριο, η ελεύθερη ρίζα αναφέρεται ως ελεύθερη ρίζα χλωρίου. Οι

βιολογικές ρίζες περιλαμβάνουν το οξυγόνο, τον άνθρακα, το άζωτο και το χλώριο.

Στη βιολογία, γενικά, κεντρικό ρόλο παίζουν οι ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου. Είναι γνωστό ότι το οξυγόνο αποτελεί το βασικό χημικό στοιχείο της ζωής, όμως σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως κατά τη διάρκεια της αναπνοής, το οξυγόνο είναι ικανό να δημιουργήσει μια σειρά χημικά ενεργών ουσιών που θεωρούνται υπεύθυνες για το οξειδωτικό stress. Τέτοιες ενεργείς ρίζες οξυγόνου (ROS) περιλαμβάνουν όχι μόνο τις ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου, όπως τη ρίζα του υδροξυλίου (HO^\cdot) και τη ρίζα του υπεροξειδίου (O_2^\cdot), αλλά και άλλες οντότητες χωρίς αζευγάρωτα ηλεκτρόνια, όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) και τη μονή ρίζα του οξυγόνου ($^1\text{O}_2$). Όλες οι ROS έχουν κοινή ικανότητα να αποσπούν ένα ηλεκτρόνιο από ένα μόριο-στόχο και αυτό χημικά ονομάζεται οξείδωση. Επομένως, οι ROS προκαλούν οξείδωση και γι' αυτό δρουν ως οξειδωτικά. Στους ζωντανούς οργανισμούς μπορούν να οξειδώσουν όλα τα οργανικά μόρια, όπως υδατάνθρακες, λιπίδια, αμινοξέα, πρωτεΐνες, νουκλεοτίδια και άλλα, προκαλώντας μια σειρά βιοχημικών αλλαγών υπεύθυνων για τις βλάβες του οξειδωτικού stress που συμβαίνουν συνεχώς κατά τη διάρκεια της ζωής.

2. ΤΟΠΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΡΙΖΩΝ

Μέσα στα κύτταρα, οι ROS παράγονται κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής μεταβολικής δραστηριότητας είτε αυθόρμητα είτε ως αποτέλεσμα αντιδράσεων που καταλύονται από ένζυμα ή από μέταλλα μεταφορείς, όπως σίδηρος ή χαλκός. Σε ορισμένες περιπτώσεις, κάποιοι εξωγενείς παράγοντες είναι ικανοί να αυξήσουν την παραγωγή των ελευθέρων ριζών.

Η κυτταρική μεμβράνη εμπλέκεται στην παραγωγή οξειδωτικών ριζών, κυρίως κατά τη διάρκεια φλεγμονής και λοιμώξεων. Στα ουδετερόφιλα, η μεμβράνη τους φιλοξενεί όχι μόνο την οξειδάση του NADPH, η οποία καταλύει τη δημιουργία ανιόντων υπεροξειδίου, αλλά και το σύστημα της λιποξυγενάσης, που δημιουργεί ποικίλα υδροϋπεροξειδία (ROOH) ως ενδιάμεσα συστατικά.

Τα μιτοχόνδρια αποτελούν κύρια πηγή οξειδωτικών ριζών, γιατί σε αυτά βρίσκεται η αλυσίδα των αναπνευστικών ενζύμων, τα οποία είναι υπεύθυνα για την οξειδωτική φωσφορυλίωση. Στην πραγματικότητα, η μεταφορά ηλεκτρονίων δεν καταλήγει αποκλειστικά στη δημιουργία του μορίου του νερού, ενώ μικρά αλλά σημαντικά ποσά των ηλεκτρονίων (1–2%) μεταφέρονται από τα ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας κατευθείαν στο μοριακό οξυγόνο, δημιουργώντας ανιόντα υπεροξειδίου ή ρίζες υδροξυλίου ή υπεροξειδία του υδρογόνου. Έχει υπολογιστεί ότι κατά τη διάρκεια σημαντικής άσκησης στους σκελετικούς μυς, το ποσό των ηλεκτρονίων που διαφεύγει κατ' αυτόν τον τρόπο μπορεί να μειώσει άμεσα το 15% του μιτοχονδριακού οξυγόνου.

Τα υπεροξεισωμάτια είναι, επίσης, οργανύλια μέσα στα οποία αναπτύσσονται ελεύθερες ρίζες. Συγκεκριμένα, μέσα στα υπεροξεισωμάτια τα λιπαρά οξέα υφίστανται μια ειδική οξειδωτική διαδικασία. Στο πρώτο στάδιο αυτής της διαδικασίας, μια φλαβοπρωτεΐνη αφαιρεί ένα ζευγάρι ατόμων υδρογόνου από ένα μόριο ενεργοποιημένου λιπαρού οξέος (acyl-CoA). Τα δύο άτομα υδρογόνου μεταφέρονται απευθείας στο μοριακό οξυγόνο και παράγεται το υπεροξειδίο του υδρογόνου.

Στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, ενεργός παραγωγή ριζών γίνεται μέσω του κυτοχρώματος P₄₅₀, που είναι γνωστό ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αποτοξίνωσης. Το κυτόχρωμα P₄₅₀ είναι μια αιμοπρωτεΐνη που έχει τη δυνατότητα να καταλύει αντιδράσεις υδροξυλίωσης για την παραγωγή ενεργών οξειδωτικών ριζών.

Γίνεται σαφές ότι σε κάθε σημείο του κυττάρου η παραγωγή των ριζών έχει μια ειδική λειτουργία, όχι μόνο στο μεταβολισμό του κυττάρου αλλά και σε άλλες

διαδικασίες, όπως οι λοιμώξεις και οι φλεγμονές. Έτσι, για παράδειγμα, υπεροξειδία και άλλες ρίζες παράγονται στην κυτταρική μεμβράνη των ουδετεροφίλων, επιτίθενται στα μικρόβια και τα εξασθενούν, ώστε να φαγοκυτταρωθούν και να καταστραφούν ολοκληρωτικά πιο εύκολα. Σε αυτή την ανοσιακή απόκριση περιλαμβάνονται, εκτός από τα μικρόβια, και ξένα βιολογικά υλικά όπως μεταμοσχευθέντα όργανα ή ιστοί. Τα λευκοκύτταρα μεταναστεύουν εκεί, ενεργοποιούνται και βομβαρδίζουν τα τραυματισμένα κύτταρα με ελεύθερες ρίζες.

Συμπερασματικά, οι ελεύθερες ρίζες είναι απαραίτητα ενδιάμεσα στοιχεία στον κυτταρικό μεταβολισμό. Η παραγωγή τους είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την ανθρώπινη ζωή, ενώ επηρεάζεται και από εξωγενείς παράγοντες. Διάφοροι φυσικοί, χημικοί ή βιολογικοί παράγοντες μπορούν να πυροδοτήσουν την έναρξη της παραγωγής τους, ενώ μπορούν ακόμη και να την αυξήσουν.

Η ιονίζουσα και η υπεριώδης ακτινοβολία αποτελούν παράδειγμα φυσικού παράγοντα που ευνοεί την παραγωγή ελευθέρων ριζών, με τη ραδιόλυση και φωτόλυση, αντίστοιχα, του νερού, που αποτελεί βασικό συστατικό των ζωντανών οργανισμών. Το όζον αποτελεί χημικό παράγοντα παραγωγής ριζών υδροϋπεροξειδίων, δρώντας σε συστατικά που προέρχονται από τη φαινόλη. Άλλοι χημικοί παράγοντες, όπως οι αρωματικοί πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες και μερικά φάρμακα, δρουν με έμμεσο μηχανισμό και, συγκεκριμένα, μέσω ενεργοποίησης του κυτοχρώματος P₄₅₀. Τέλος, παράδειγμα βιολογικού παράγοντα παραγωγής ριζών είναι τα βακτήρια και άλλοι μολυσματικοί παράγοντες, καθώς και μερικά αντισώματα.

2.1. Το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα

Οι ελεύθερες ρίζες (ROS) αποτελούν δυνητικά επικίνδυνους παράγοντες, εναντίον των οποίων δρα το αμυντικό σύστημα. Το σύστημα αυτό περιλαμβάνει ένζυμα, βιταμίνες, μικροστοιχεία κ.ά. Η διάκρισή τους γίνεται με βάση την προέλευσή τους (εξωγενή ή ενδογενή), τη διαλυτότητά τους (υδρόφιλα ή υδρόφοβα) και τη χημική τους φύση (ενζυμική ή μη ενζυμική). Καλύτερη ταξινόμηση των παραγόντων του αμυντικού συστήματος γίνεται με βάση τον τρόπο δράσης τους: αναχαιτιστές των αντιοξειδωτικών, εκκαθαριστές των ελευθέρων ριζών, παράγοντες επανόρθωσης, ρυθμιστικοί παράγοντες.

Στους αναχαιτιστές των ROS ανήκουν η τρανσφερίνη, η λακτοφερίνη, η αποσφαιρίνη, η σερουλοπλασμίνη και η λευκωματίνη. Στους εκκαθαριστές των ROS ανήκουν τα καρωτενοειδή, η υπεροξειδική δισμουτάση, οι

καταλάσες, οι γλουταθειονικές υπεροξειδάσες και η γλουταθειονική τρανσφεράση. Στους εκκαθαριστές των ελευθέρων ριζών ανήκουν, ακόμη, το ασκορβικό άλας, το ουρικό οξύ, η χολερυθρίνη, η λευκωματίνη, η τοκοφερόλη και τα καρωτενοειδή. Στους επισκευαστικούς παράγοντες του αμυντικού οξειδωτικού συστήματος ανήκουν διάφορα ένζυμα, όπως λιπάσες, πρωτεάσες, τρανσφεράσες και ένζυμα επισκευής του DNA.

Το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα κατανέμεται ισότιμα μέσα σε ένα ζωντανό οργανισμό. Στο εξωκυττάριο τμήμα και, συγκεκριμένα, στο πλάσμα, όλα τα στοιχεία που είναι ικανά να δώσουν άτομα υδρογόνου ή ηλεκτρόνια, για να ικανοποιήσουν την ανάγκη των ελευθέρων ριζών, αποτελούν κομμάτι του αντιοξειδωτικού αμυντικού συστήματος. Σε αυτό περιλαμβάνονται η λευκωματίνη, η χολερυθρίνη, το ουρικό οξύ και όλα τα εξωγενώς χορηγούμενα διαιτητικά ή φαρμακολογικά αντιοξειδωτικά, όπως το ασκορβικό άλας, η τοκοφερόλη, τα βιοφλαβονοειδή.

Ενδοκυτάρια, το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα κατανέμεται ισότιμα στις μεμβράνες και στο κυτταρόπλασμα. Επειδή η πλειοψηφία των ελευθέρων ριζών παράγεται σε τμήματα όπου υπάρχουν λιπίδια, τα λιπόφιλα αντιοξειδωτικά (βιταμίνη Ε, β-καρωτένιο) εντοπίζονται στις μεμβράνες και αποτελούν την πρώτη γραμμή του αμυντικού συστήματος. Στις επόμενες γραμμές του αμυντικού συστήματος ανήκουν η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C, μερικά μέλη του συμπλέγματος βιταμινών Β, βιοφλαβονοειδή, αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως η γλουταθειονική υπεροξειδάση και ρεδοκτάση και τα συνένζυμά τους, ή τα προσθετικά στοιχεία, όπως το σελήνιο, η δισμουτάση του υπεροξειδίου και οι καταλάσες.

2.2. Παθοφυσιολογία του οξειδωτικού stress

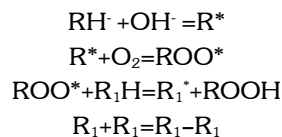
Το οξειδωτικό stress ορίζεται ως το χημικό stress που δημιουργείται από την υπερβολική παρουσία ελευθέρων ριζών, η οποία οφείλεται στην υπερβολική παραγωγή ή και την αδυναμία του ζωντανού οργανισμού να εξουδετερώσει τις ρίζες αυτές, που έχουν παραχθεί με οποιονδήποτε τρόπο. Η άνιση αυτή σχέση μεταξύ οξειδωτικού και αμυντικού συστήματος καταλήγει σε μια σειρά λειτουργικών και δομικών κυτταρικών αλλαγών, οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν το κύτταρο σε απόπτωση ή νέκρωση.

Όταν οι ανωτέρω βλάβες μεταφέρονται από το κυτταρικό στο ιστικό επίπεδο, τότε είναι υπεύθυνες για την πρόωπη γήρανση και διάφορα νοσήματα, όπως εγκεφαλικά επεισόδια, εμφράγματα, σακχαρώδης διαβήτης,

παχυσαρκία, ρευματοειδής αρθρίτιδα, νόσος του Crohn, νόσος του Parkinson κ.ά.¹⁻³ Βέβαια, δεν είναι πάντα δυνατόν να εξακριβωθεί αν οι ελεύθερες ρίζες είναι η αιτία ή το αποτέλεσμα των βλαβών που παρατηρούνται.

Αυξημένη παραγωγή των ROS παρατηρείται μετά από έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία, περιβαλλοντική μόλυνση, έκθεση σε βαριά μέταλλα, κάπνισμα τσιγάρου, μετά από υπερβολική άσκηση ή, το αντίθετο, σε υπερβολικά καθιστική ζωή. Η μειωμένη πρόσληψη ή και η μειωμένη σύνθεση ή η αυξημένη κατανάλωση αντιοξειδωτικών είναι καταστάσεις υπεύθυνες για τη δημιουργία οξειδωτικού stress λόγω μειωμένης αντιοξειδωτικής άμυνας. Η αυξημένη ποσότητα των ROS είναι ικανή να δράσει σε οποιοδήποτε κυτταρικό στοιχείο, προκειμένου να του αφαιρέσει ηλεκτρόνια για να αποκτήσει τη σταθερότητά της. Αυτή η διαδικασία πυροδοτεί μια αλυσιδωτή αντίδραση και, αν δεν αναχαιπιστεί, θα καταλήξει σε λειτουργική ή δομική βλάβη του κυττάρου.

Ένας πολύ καλά μελετημένος και σημαντικός μηχανισμός που εμπλέκεται στην κυτταρική και ιστική βλάβη είναι εκείνος που αφορά στην παραγωγή υδροϋπεροξειδίων (ROOH). Τα συστατικά αυτά ανήκουν και στους ενεργούς μεταβολίτες του οξυγόνου (ROMs). Το πρώτο βήμα στη δημιουργία των υδροϋπεροξειδίων είναι η επίθεση ενός βιομορίου από μια ελεύθερη ρίζα. Μέσα στα κύτταρα, η πλέον επικίνδυνη ρίζα είναι η ρίζα του υδροξυλίου (OH[•]). Όταν η αντιοξειδωτική κυτταρική άμυνα έχει αποτύχει, η ρίζα του υδροξυλίου επιτίθεται σε ένα οργανικό μόριο (συμβολίζεται ως RH[•]), το οποίο μπορεί να είναι λιπίδιο, αμινοξύ, πρωτεΐνη, νουκλεοτίδιο, με στόχο να αφαιρέσει ένα ηλεκτρόνιο για να αποκτήσει τη σταθερότητά της. Με αυτόν τον τρόπο, μια νέα ενεργός ρίζα με κεντρικό άτομο τον άνθρακα (R[•]) δημιουργείται και ξεκινά μια αλυσιδωτή αντίδραση παραγωγής νέων ριζών. Με τη σειρά της, η ρίζα αυτή αντιδρά με το μοριακό οξυγόνο και παράγεται μια ρίζα υδροϋπεροξυλίου (ROO[•]). Σε τρίτη φάση, η ρίζα του υδροϋπεροξυλίου μπορεί να αντιδράσει με ένα νέο οργανικό μόριο (R₁H) παράγοντας μια νέα ρίζα (R₁[•]) και το υδροϋπεροξειδίο (ROOH). Αυτή η αλυσιδωτή αντίδραση που πυροδοτήθηκε από το OH[•] θα τερματίσει όταν δύο R₁ ενωθούν να παράγουν R₁-R₁ ή όταν παρέμβει κάποιο αντιοξειδωτικό:



RH: Οργανικό μόριο (λιπίδιο, αμινοξύ, πρωτεΐνη)
OH[•]: Ρίζα υδροξυλίου

R*: Ρίζα του άνθρακα

ROO*: Ρίζα υδροϋπεροξυλίου

R₁H: Νέο οργανικό μόριο

ROOH: Ρίζα υδροϋπεροξειδίου

R₁[•]: Νέα ενεργός ρίζα

Αν η αλυσιδωτή αντίδραση ξεκινήσει από κάποιο λιπαρό οξύ –όπως το αραχιδονικό οξύ– ως R, τότε θα σχηματιστεί η ρίζα υδροϋπεροξειδίου του λιπαρού οξέος. Τα λιπίδια των βιομεμβρανών είναι εξαιρετικοί στόχοι για τις ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες. Η ρίζα του υδροϋπεροξυλίου του λιπιδίου έχει ρόλο-κλειδί στην αλυσίδα των αντιδράσεων. Συγκεκριμένα, αν κάποιος δότης ηλεκτρονίου (R-H) βρεθεί μέσα στο βιολογικό υλικό, από τη ρίζα αυτή θα δημιουργηθεί ένα υδροϋπεροξειδίου του λιπιδίου. Η παραγωγή ριζών από την οξείδωση των λιπιδίων μπορεί να αυξηθεί ακόμη περισσότερο παράγοντας μαλονδιαλδεϋδη (MDA) και αέρια πεντανίου ή αιθανίου, αν βρεθούν άλλοι δότες υδρογονοκατιόντων, μέχρι να καταναλωθεί πλήρως το αντιοξειδωτικό σύστημα.

Επομένως, τα υδροϋπεροξειδία δημιουργούνται μέσα στο κύτταρο και, σε αντίθεση με τις άλλες ελεύθερες ρίζες, είναι περισσότερο σταθερές, αλλά διατηρούν την οξειδωτική τους ικανότητα. Έτσι, όταν βρεθεί στο δρόμο τους ένα ελεύθερο μέταλλο, όπως σίδηρος ή χαλκός, πυροδοτείται η αντίδραση του Fenton και σχηματίζονται ρίζες αλκοξυλίου (RO[•]) ή ρίζες υδροϋπεροξυλίου (ROO[•]). Αυτές οι ενώσεις ενισχύουν το οξειδωτικό stress ενδοκυττάρια, ενώ τα κύτταρα αποβάλλουν τα υδροϋπεροξειδία στα βιολογικά υγρά, όπως στο πλάσμα του αίματος.

Μέσα στα βιολογικά υγρά τα υδροϋπεροξειδία φαίνεται όχι μόνο να ενισχύουν αλλά και να αποτελούν δείκτη της ιστικής βλάβης, αφού εξακολουθούν και μέσα στο πλάσμα να διατηρούν την οξειδωτική τους ικανότητα. Λόγω ακριβώς αυτής της διατήρησης της οξειδωτικής τους ικανότητας μπορούν να πυροδοτήσουν μια αλυσιδωτή αντίδραση αν βρεθεί κάποιο μέταλλο, όπως ο σίδηρος, για να δράσει ως καταλύτης. Ως γνωστόν, ο σίδηρος σχηματίζει χηλικές ενώσεις με ειδικές πρωτεΐνες, όπως η τρανσφερίνη. Σε κάποιες καταστάσεις, όπως σε οξείδωση, το άτομο του σιδήρου είναι δυνατόν να απελευθερωθεί και να δράσει ως καταλύτης στην αντίδραση Fenton και να παράγει –όπως ακριβώς μέσα στο κύτταρο– ρίζες αλκοξυλίου και υδροϋπεροξυλίου. Με τη σειρά τους, οι ρίζες μπορούν να προσβάλλουν τις LDL λιποπρωτεΐνες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, επιδεινώνοντας το οξειδωτικό stress. Όλη αυτή η αλυσιδωτή αντίδραση, που οδηγεί στην παραγωγή ελευθέρων ριζών, θα συνεχίσει όσο υπάρχει μοριακό οξυγόνο και δεν υπάρχουν αντιοξειδωτικά για να τη σταματήσουν.

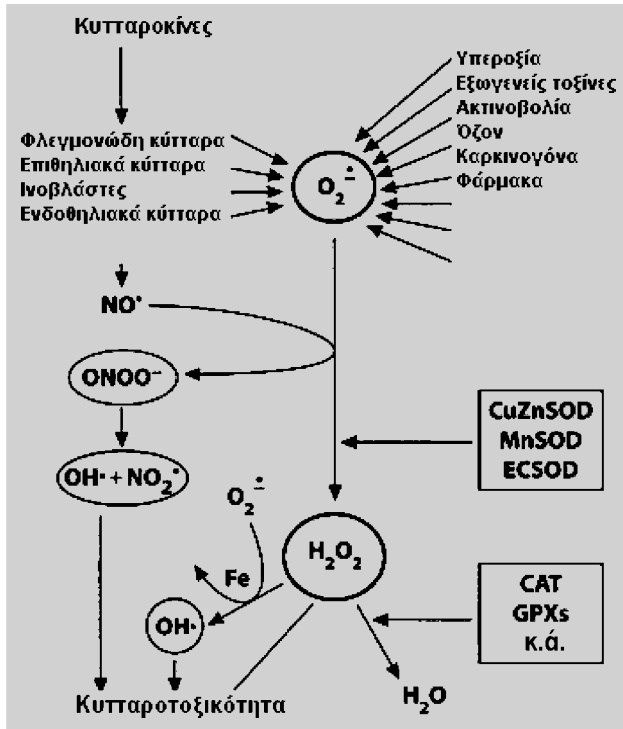
Η επιδείνωση της οξειδωτικής ισορροπίας δεν παρατηρείται μόνο στις οξείες ή τις χρόνιες φλεγμονές, αλλά μπορεί να συμβεί και κατά τη διάρκεια επανοξυγόνωσης υποξαιμικών ιστών, όπως μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου. Έχουν περιγραφεί πάνω από 50 παθήσεις που σχετίζονται με το οξειδωτικό stress, όπως η αρτηριοσκλήρυνση, ο διαβήτης, η νόσος του Parkinson, η οστεοαρθρίτιδα, το AIDS κ.ά.⁴⁻⁶

3. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ ΠΝΕΥΜΟΝΑΣ

Ο πνεύμονας αποτελεί έναν εξαιρετικό στόχο για το οξειδωτικό stress, λόγω της άμεσης έκθεσής του στις υψηλές πιέσεις οξυγόνου. Είναι γνωστό ότι η μερική πίεση του οξυγόνου στις κυψελίδες είναι πολύ υψηλότερη συγκριτικά με άλλα ζωικά όργανα, όπως η καρδιά, το ήπαρ και ο εγκέφαλος. Η πίεση του οξυγόνου στον εισπνεόμενο αέρα είναι 150 mmHg, μέσα στις κυψελίδες μειώνεται στα 100 mmHg, ενώ στο φλεβικό αίμα φθάνει στα 45 mmHg και, τέλος, καταλήγει στο 1 mmHg στους ιστούς ορισμένων οργάνων. Ένα άλλο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του πνεύμονα είναι η μεγάλη επιφάνειά του (περίπου 70 m² στον ενήλικα).

Λόγω της άμεσης έκθεσης στον ατμοσφαιρικό αέρα, τα κύτταρα του πνεύμονα υφίστανται οξειδωτικό stress από τα ερεθιστικά του περιβάλλοντος, όπως ο καπνός του τσιγάρου, το όζον, το διοξείδιο του αζώτου και του θείου. Επιπλέον, τα φλεγμονώδη κύτταρα που εμφανίζονται στις περισσότερες παθήσεις του πνεύμονα, παράγουν και απελευθερώνουν ελεύθερες ρίζες. Η οξυγονοθεραπεία, επίσης, προκαλεί με τον ίδιο μηχανισμό βλάβη στον πνεύμονα κατά την αντιμετώπιση της προώρτητας των νεογνών, καθώς και στην αναπνευστική ανεπάρκεια του μη καρδιογενούς πνευμονικού οιδήματος (ARDS). Επιπλέον, ορισμένες θεραπείες, όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοβολία, οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών, με τον πνεύμονα να είναι το πλέον συχνά εμπλεκόμενο όργανο. Επομένως, ο πνεύμονας αποτελεί το μοναδικό όργανο που είναι άμεσα εκτεθειμένο όχι μόνο στις υψηλές πιέσεις οξυγόνου και τους οξειδωτικούς παράγοντες του περιβάλλοντος, αλλά και στα οξειδωτικά που παράγονται κατά τη διάρκεια διαφόρων παθήσεων του πνεύμονα και των θεραπειών του.

Η πρώτη ενεργός ρίζα οξυγόνου που παράγεται είναι το ανιόν του υπεροξειδίου, το οποίο λαμβάνει μέρος στην παραγωγή άλλων ενεργών μεταβολιτών, όπως το υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂), τη ρίζα του υδροξυλίου και το υπεροξειδίου του αζώτου (εικ. 1). Τα περισσότερα ζωντανά κύτταρα, όπως και αυτά του πνεύμονα,



Εικόνα 1. Τρόπος δημιουργίας ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS) και ενεργών ριζών αζώτου (RNS) στον πνεύμονα. Η δημιουργία των ROS και RNS από περιβαλλοντικούς παράγοντες και από ποικίλα κύτταρα, καθώς επίσης οι αρχικές αντιδράσεις της ρίζας του υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot -}$), του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και του οξειδίου του αζώτου (NO^{\cdot}) για την παραγωγή ριζών που προκαλούν κυτταρική και ιστική καταστροφή. Οι περισσότεροι περιβαλλοντικοί παράγοντες δημιουργούν ROS είτε απευθείας είτε με την ενεργοποίηση φλεγμονωδών κυττάρων, με αποτέλεσμα την επακόλουθη ενεργοποίηση της συνθετάσης του NO^{\cdot} για την παραγωγή του NO^{\cdot} και άλλων RNS και την ενεργοποίηση της μυελοϋπεροξειδάσης (MPO) για το σχηματισμό αλογονωμένων μεταβολιτών των ROS και RNS. Οι πλέον σημαντικοί αμυντικοί μηχανισμοί που συνδέονται με τις προηγούμενες οδούς περιλαμβάνουν τις δισμουτάσες των υπεροξειδίων, τις υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης και την καταλάση (εικ. 2).

παράγουν ελεύθερες ρίζες κάτω από φυσιολογικές συνθήκες χωρίς την παρουσία ενζύμου με αυτοοξειδωση. Κύριες πηγές παραγωγής ριζών οξυγόνου είναι η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων μέσα στα μιτοχόνδρια και τα οξειδωτικά ένζυμα που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και τις μεμβράνες (π.χ. συνθετάση του οξειδίου του αζώτου, οξειδάση της ξανθίνης κ.ά.).^{7,8}

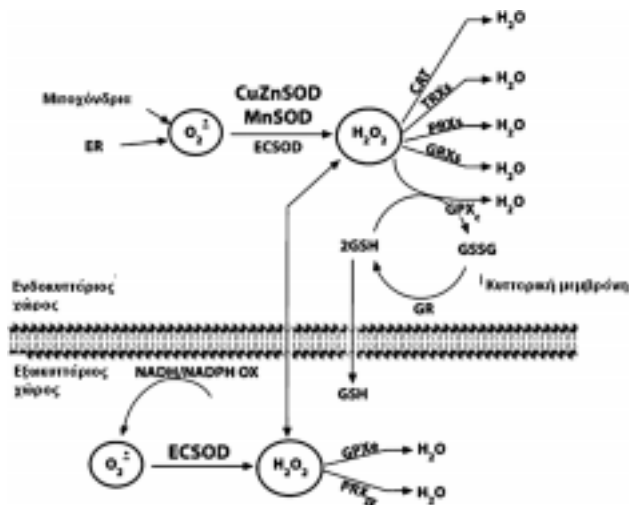
Τυπικές πηγές παραγωγής οξειδωτικών σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως στο βρογχικό άσθμα, περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση φλεγμονωδών κυττάρων, την ενεργοποίηση της οξειδοαναγωγής του NADPH στις κυτταρικές μεμβράνες και την ενεργοποίηση της συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων. Ο μεταβολισμός στα μιτοχόνδρια

παίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των κυττάρων στις καταστάσεις εκείνες όπου αυξάνεται το οξειδωτικό stress. Το οξειδωτικό stress ευνοεί τη διάσπαση της αλυσίδας της μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, καταλήγοντας είτε στον τραυματισμό των κυττάρων (νέκρωση) είτε στον κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Επομένως, ενεργές ρίζες οξυγόνου παράγονται με ποικίλους μηχανισμούς σε διάφορα κυτταρικά σημεία και παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια των παθήσεων του πνεύμονα εκεί όπου αυξάνει το οξειδωτικό stress. Τα οξειδωτικά, εκτός από τις βλάβες που προκαλούν στο κύτταρο και στο DNA, συμμετέχουν στην κυτταρική ομοίωση, ενώ παράλληλα ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό. Παράλληλα, ενεργοποιούν παράγοντες της μετάφρασης, όπως ο πυρηνικός παράγοντας κΒ, που συνδέεται με την παραγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων στον πνεύμονα. Τα αντιοξειδωτικά ένζυμα αποτελούν τον κύριο προστατευτικό μηχανισμό εναντίον της βλάβης που προκαλείται από τις ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες, ενώ διαδραματίζουν ρόλο στην ανάπτυξη νοσημάτων που σχετίζονται με την οξείδωση.

3.1. Το αντιοξειδωτικό σύστημα στον πνεύμονα

Οι δισμουτάσες του υπεροξειδίου (SODs) είναι τα μόνα ενζυμικά συστήματα που διασπούν τις ρίζες των υπεροξειδίων σε H_2O_2 και θεωρείται ότι παίζουν, όπως έχει προαναφερθεί, σημαντικό ρόλο εναντίον του οξειδωτικού stress, ειδικά στον πνεύμονα.^{8,9} Υπάρχουν τρία διαφορετικά είδη ανθρώπινων SODs: η ενδοκυττάρια δισμουτάση χαλκού-ψευδαργύρου SOD (CuZnSOD), η μιτοχονδριακή δισμουτάση μαγναίου SOD (MnSOD) και η εξοκυττάρια SOD (ECSOD) δισμουτάση.¹⁰⁻¹² Οι SODs εντοπίζονται σε όλα τα κύτταρα του πνεύμονα σε διαφορετικά σημεία και με μεγάλη ποικιλία στην έκφρασή τους.

Διάφοροι ενζυμικοί μηχανισμοί συμμετέχουν στην εξουδετέρωση του H_2O_2 στον πνεύμονα (εικ. 2). Οι πλέον σημαντικοί εξουδετερωτές του H_2O_2 είναι η καταλάση και οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης. Χαρακτηριστικό του αντιοξειδωτικού συστήματος στον ανθρώπινο πνεύμονα είναι η υψηλή περιεκτικότητα σε γλουταθειόνη (περίπου 140 φορές υψηλότερη από αυτή στην κυκλοφορία) και, επομένως, η ίδια η γλουταθειόνη και τα ένζυμα που συνδέονται με τη διατήρησή της αποτελούν ένα από τα βασικότερα αντιοξειδωτικά συστήματα του ανθρώπινου πνεύμονα.^{1,13,14} Τα διάφορα κύτταρα του πνεύμονα παρουσιάζουν διαφορετική αντίσταση στο οξειδωτικό stress και το γεγονός αυτό συνδέεται μερικώς με τη διαφορετική έκφραση σ' αυτά των αντιοξειδωτικών



Εικόνα 2. Οι σπουδαιότεροι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί στον πνεύμονα. Αντιοξειδωτικά των ριζών υπεροξειδίου και του υπεροξειδίου του υδρογόνου στον ενδοκυττάριο και τον εξωκυττάριο χώρο. Η αναχθείσα γλουταθειόνη (GSH) μεταφέρεται με διάφορους μηχανισμούς έξω από το κύτταρο, αλλά η κυτταρική μεμβράνη δεν είναι συνήθως διαπερατή στη GSH. Το H_2O_2 διασχίζει την κυτταρική μεμβράνη, ενώ η ρίζα του υπεροξειδίου δεν τη διασχίζει. Στον εξωκυττάριο χώρο, η μεγαλύτερη παραγωγή ριζών υπεροξειδίου προέρχεται από την οξείδωση του NADH και NADPH στις κυτταρικές μεμβράνες, όπου υπάρχουν ειδικά εξωκυττάρια αντιοξειδωτικά, όπως οι ECSOD (εξωκυττάρια δισμουτάση του υπεροξειδίου), η GPSe (εξωκυττάρια υπεροξειδάση της γλουταθειόνης) και η υπεροξειρεντοξίνη.

ενζύμων. Τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II, για παράδειγμα, εκκρίνουν CuZnSOD, MnSOD και καταλάση και είναι ανθεκτικά στο οξειδωτικό stress.⁸ Αντίθετα, τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου I εμφανίζουν μικρή έκκριση αντιοξειδωτικών ενζύμων και, επομένως, είναι ευαίσθητα στη βλάβη και στο θάνατο κάτω από συνθήκες οξειδωτικού stress. Τα κυψελιδικά μακροφάγα εμφανίζουν μεγάλη έκφραση καταλάσης και καταναλώνουν με αυτή εξωγενές H_2O_2 .^{15,16} Εκτός από τα κλασικά αντιοξειδωτικά ένζυμα, ο ανθρώπινος πνεύμονας φαίνεται να παράγει και άλλα ένζυμα που έχουν την ικανότητα να καταναλώνουν H_2O_2 και τα οποία περιλαμβάνουν κυρίως τις υπεροξειρεντοξίνες και τις γλουταρεντοξίνες. Η έκφραση των περισσότερων από αυτά τα ένζυμα γίνεται στους αεραγωγούς και τα κυψελιδικά μακροφάγα.^{17,18}

Υπάρχουν ακόμη μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά που είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της ισορροπίας του πνεύμονα. Έτσι, ενώ το εξωκυττάριο υγρό είναι πλούσιο σε γλουταθειόνη, φαίνεται ότι και οι επιφανειοδραστικές πρωτεΐνες, όπως η επιφανειοδραστική πρωτεΐνη D, έχουν σημαντική αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Μέταλλα όπως ο σίδηρος και ο χαλκός δρουν ενισχύοντας την οξειδωτική επίδραση, αλλά είναι συνδεδεμένα με

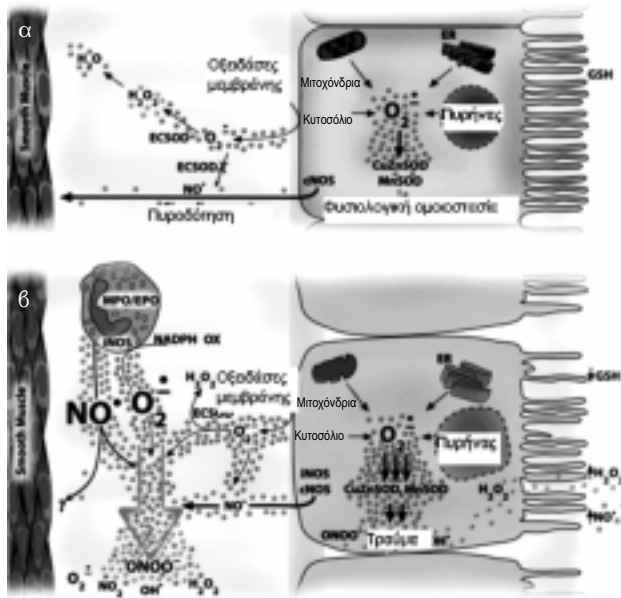
πρωτεΐνες (τρανσφερίνη, φεριπίνη, σερουλοπλασμίνη, λακτοφερίνη κ.ά.). Μερικές άλλες πρωτεΐνες, όπως η λευκοματίνη, διαθέτουν σημαντική ικανότητα εξουδετέρωσης ελευθέρων οξειδωτικών ριζών. Τέλος, άλλα αντιοξειδωτικά είναι οι βιταμίνες μικρού μοριακού βάρους, είτε λιποδιαλυτές όπως η βιταμίνη E, είτε υδατοδιαλυτές όπως η βιταμίνη C.

3.2. Οι ελεύθερες ρίζες στην παθογένεια των παθήσεων του πνεύμονα

Οι ελεύθερες ρίζες κατέχουν εξέχοντα παθογενετικό ρόλο στις αποφρακτικές παθήσεις. Το άσθμα συνδέεται με τη χρόνια φλεγμονή και το αυξημένο οξειδωτικό φορτίο. Τα φλεγμονώδη κύτταρα των αεραγωγών στο άσθμα ενεργοποιούνται και παράγουν οξειδωτικές ρίζες. Συγκεκριμένα, ο εκπνεόμενος αέρας στους ασθενείς με άσθμα περιέχει αυξημένα ποσά H_2O_2 , οξειδίου του αζώτου και οργανικών πτητικών ουσιών.¹⁹⁻²³ Το βρογχικό επιθήλιο των ασθενών με άσθμα εμφανίζει αυξημένη έκφραση συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου, η οποία συνδέεται με τα αυξημένα επίπεδα οξειδίου του αζώτου στον εκπνεόμενο αέρα.²⁴ Έτσι, υπάρχουν πολλαπλές οδοί παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου, όπως φαίνεται στην εικόνα 3.

Οι ελεύθερες ρίζες φαίνεται να παίζουν κεντρικό ρόλο στη χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια.²⁵⁻²⁷ Είναι γνωστό ότι η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια συνδέεται με το κάπνισμα σε ποσοστό >90% των περιπτώσεων. Μία εισπνοή καπνού περιέχει πάνω από 10^{14-16} ελεύθερες ρίζες. Οι αεραγωγοί των ασθενών με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια περιέχουν μεγάλο αριθμό ουδετεροφίλων, τα οποία, όταν ενεργοποιούνται, παράγουν και αυτά ελεύθερες ρίζες. Επιπλέον, τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα απενεργοποιούν το φυσικό σύστημα αντιπρωτεασών του πνεύμονα, από τα οποία το πλέον γνωστό είναι αυτό της α_1 -αντιθρυψίνης. Αυτή η απενεργοποίηση οδηγεί στην προοδευτική εμφάνιση εμφυσήματος στον πνεύμονα.

Οι ελεύθερες ρίζες συμμετέχουν ακόμη στην παθογένεια πολλών διάμεσων πνευμονοπαθειών. Οι ιδιοπαθείς διάμεσες πνευμονίες,^{28,29} και ιδιαίτερα η συνήθης διάμεση πνευμονία (UIP), εμφανίζει βλάβες στο παρέγχυμα με πτωχή πρόγνωση και ιστοπαθολογικές ομοιότητες με τις βλάβες που προκαλούνται από την υπεροξία. Σε αντίθεση όμως με τις βλάβες που προκαλούνται από την υπεροξία, στη συνήθη διάμεση πνευμονία οι βλάβες του πνεύμονα είναι ανομοιογενείς, με ποικίλα στάδια ίνωσης και μικρό βαθμό φλεγμονής.³⁰ Υπάρχουν πολλές μελέτες που δείχνουν ότι το οξειδωτικό φορτίο των πνευ-



Εικόνα 3. Πηγές του οξειδωτικού stress στις φλεγμονώδεις παθήσεις του πνεύμονα. (α) Κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής κυτταρικής ομοιοστασίας, ρίζες υπεροξειδίου παράγονται σε μερικά σημεία του κυττάρου, όπως στα μιτοχόνδρια, στο ενδοπλασματικό δίκτυο, στην κυτταρική και στην πυρηνική μεμβράνη (τόσο στα φαγοκύτταρα όσο και στα μη φαγοκύτταρα). Η ενδοκυττάρια παραγωγή του υπεροξειδίου και του H_2O_2 αντιρροπείται από τα υψηλά επίπεδα των αντιοξειδωτικών ενζύμων και παραμένει μικρού βαθμού stress για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιοστασίας. Η εξωκυττάρια παραγωγή υπεροξειδίων είναι εξαιρετικά χαμηλή όταν δεν υπάρχουν φλεγμονώδη κύτταρα και αντιρροπείται από την παρουσία της ECSOD στα τοιχώματα των αεραγωγών. Η ενδοκυττάρια παραγωγή του οξειδίου του νιτρικού οξέος (NO) προστατεύεται από την επίθεση του υπεροξειδίου από την παρουσία της ECSOD. (β) Κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού stress, όπως στη φλεγμονή του άσθματος, ενεργοποιούνται μέσα στα κύτταρα οι οδοί παραγωγής τόσο του υπεροξειδίου όσο και του οξειδίου του νιτρικού οξέος. Τα φλεγμονώδη κύτταρα, όπως τα πωσινοφιλά, τα μονοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα, συσσωρεύονται κάτω από το επιθήλιο των αεραγωγών. Η οξειδάση του NADPH στις κυτταρικές μεμβράνες, οι μυελοϋπεροξειδάσες (MPO) και η υπεροξειδάση των πωσινοφίλων (EPO) ενεργοποιούνται μέσα στα φλεγμονώδη κύτταρα. Το αυξημένο κυτταρικό stress οδηγεί στην αποδιοργάνωση της κυτταρικής ομοιοστασίας και τη μετατροπή του NO σε προφλεγμονώδεις και κυτταροτοξικές ουσίες, όπως τα υπεροξειδία του νιτρικού οξέος. Δεν έχουν γίνει μελέτες που να εκτιμούν αν τα επίπεδα των ECSOD αυξάνουν ή ελαττώνονται στους αεραγωγούς που φλεγμίνουν.

μόνων σε ασθενείς με πνευμονική ίνωση είναι αυξημένο και ότι τα φλεγμονώδη κύτταρα αυτών των ασθενών παράγουν περισσότερες ελεύθερες ρίζες από τα κύτταρα άλλων ασθενών.³³⁻³⁵ Επιπλέον, τα φλεγμονώδη κύτταρα στις παθήσεις αυτές παράγουν υψηλά επίπεδα συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου, το οποίο πιθανόν να προκαλεί βλάβη σε πολλά κύτταρα του πνεύμονα.³⁶

Τα φλεγμονώδη κύτταρα των ασθενών με σαρκοείδωση παράγουν επίσης περισσότερες ελεύθερες ρίζες

από τα κύτταρα υγιών ανθρώπων.³⁷ Τα επίπεδα της γλουταθειόνης σε άλλες κοκκιοματώδεις νόσους, όπως στην εξωγενή αλλεργική κυψελιδίτιδα,³⁸ είναι μειωμένα, υποδηλώνοντας το αυξημένο οξειδωτικό φορτίο στις κοκκιοματώδεις παθήσεις του πνεύμονα.

Ο περισσότερο καλά μελετημένος περιβαλλοντικός οξειδωτικός παράγοντας είναι οι ίνες του αμιάντου. Οι ίνες του αμιάντου συνδέονται με την παραγωγή ελεύθερων ριζών τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*,^{39,40} ενώ επάγουν την παραγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων, κυρίως του MnSOD, στο επιθήλιο του βρογχικού βλεννογόνου και τα μεσοθηλιακά κύτταρα. Η παραγωγή των ενεργών ριζών οξυγόνου από τις ίνες αμιάντου θεωρείται ότι αποτελεί μέρος της διαδικασίας που καταλήγει στην ίνωση των πνευμόνων (αμιάντωση). Τα εξωκυττάρια μόρια, όπως το κολλαγόνο, ο επιφανειοδραστικός παράγοντας και οι αναστολείς των πρωτεϊνάσων, είναι ευαίσθητα στην επίδραση των υπεροξειδίων και των υπεροξειδίων του αζώτου,^{41,42} τα οποία, στη συνέχεια, έχουν καταλυτική δράση στην πρόκληση των παρεγχυματικών βλαβών. Ένας από τους πλέον σημαντικούς παράγοντες στην παθογένεια των ινωτικών βλαβών του πνεύμονα είναι ο παράγοντας μεταγραφής β. Η παραγωγή του φαίνεται να εκτρέπεται από τις ελεύθερες ρίζες (ακτινοβολία, οξείδιο του αζώτου)⁴³ και να προάγει τη φλεγμονώδη διαδικασία σε ίνωση.

Οι ελεύθερες ρίζες συνδέονται στενά με μια ποικιλία οξειών παθήσεων. Η χρήση του οξυγόνου σε υψηλές συγκεντρώσεις στις μονάδες εντατικής θεραπείας οδηγεί συχνά σε μη αναστρέψιμες βλάβες του πνεύμονα.⁴⁴ Επιπλέον, οι ελεύθερες ρίζες παίζουν σημαντικό ρόλο σε άλλες παθήσεις του πνεύμονα, όπως οι λοιμώξεις, οι πλευριτικές συλλογές και σε άλλα λιγότερο συχνά νοσήματα, όπως η κυστική ίνωση, η πρωτοπαθής πνευμονική υπέρταση και οι επιπλοκές που εμφανίζονται μετά από τη μεταμόσχευση των πνευμόνων.⁴⁵⁻⁴⁷

Μερικά φάρμακα, επίσης, όπως η μπλεομυκίνη,⁴⁸ έχουν τοξική δράση στον πνεύμονα, η οποία συνδέεται με τη δημιουργία ελεύθερων ριζών, ενώ το ίδιο συμβαίνει και με άλλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, όπως την καρμουστίνη (BCNU), τις ανθρακυκλίνες, τους αντιμεταβολίτες και τα αντιβιοτικά, όπως τη νιτροφουραντοΐνη.⁷ Τέλος, οι ελεύθερες ρίζες εμπλέκονται και στην παθογένεια των βλαβών του πνεύμονα που προκαλείται από την ακτινοβολία.

3.3. Οξειδωτικό stress, καρκινογόνα και καρκίνος του πνεύμονα

Ο καπνός του τσιγάρου που περιέχεται σε μια εισπνοή καπνού περιέχει περίπου 10^{10} σωματίδια/mL.⁴⁹

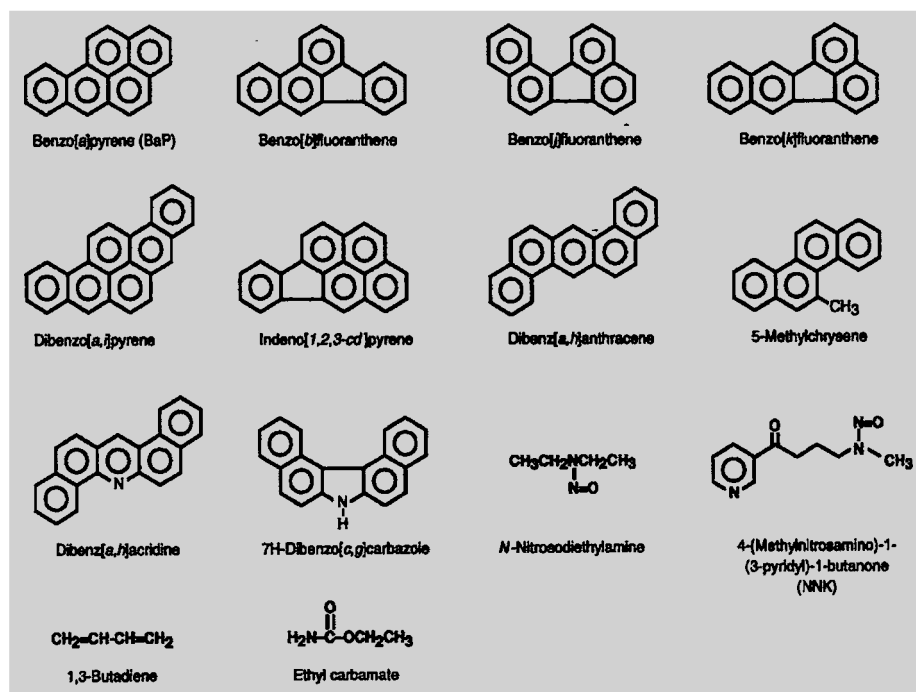
Περίπου το 95% του καπνού αποτελείται από αέρια, κυρίως άζωτο, οξυγόνο και διοξείδιο του άνθρακα. Στα πειράματα, αυτή η αέρια φάση διαχωρίζεται από τη στερεή φάση με φίλτρο από γυάλινες ίνες. Η στερεή φάση περιέχει περίπου 3500 συστατικά, τα περισσότερα από τα οποία είναι καρκινογόνα.⁴⁹

Έχουν ταυτοποιηθεί 55 καρκινογόνα (πίν. 1) σε μια εισπνοή τσιγάρου, σύμφωνα με τη διεθνή επιτροπή για την έρευνα του καρκίνου. Για όλα αυτά έχει τεκμηριωθεί η συμμετοχή τους στην καρκινογένεση σε ανθρώπους και ζώα. Υπάρχουν ακόμη πιθανά καρκινογόνα,⁵⁰ για τα οποία η συμμετοχή τους στην καρκινογένεση δεν έχει τεκμηριωθεί επαρκώς από την επιτροπή που προαναφέρθηκε. Στην εικόνα 4 φαίνεται η δομή ορισμένων καρκινογόνων.

Πίνακας 1. Καρκινογόνα στον καπνό του τσιγάρου.

Τύπος	Αριθμός ουσιών
Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες	10
Αζαρένια	3
N-νιτροζαμίνες	7
Αρωματικές αμίνες	3
Ετεροκυκλικές αρωματικές αμίνες	8
Αλδεΐδες	15
Διάφορα οργανικά συστατικά	7
Σύνολο	55

Ο καπνός του τσιγάρου περιέχει ελεύθερες ρίζες, που προκαλούν οξειδωτική βλάβη στον άνθρωπο. Η αέρια φάση του παραγόμενου καπνού τσιγάρου περιέχει περίπου 600 μg οξειδίου του αζώτου.⁵¹ Η στερεή φάση περιέχει ελεύθερες ρίζες, οι οποίες είναι αρκετά σταθερές για να μπορούν να ανιχνευθούν με παγίδα ηλεκτρονίων.⁵² Το μεγαλύτερο μέρος των ελευθέρων ριζών θεωρείται ότι ανήκει στο σύμπλεγμα κινόνης-υδροκινόνης, που περιέχεται στην πίσσα.⁵³ Περαιτέρω έρευνα οδήγησε στην υπόθεση ότι το σύστημα των ελευθέρων ριζών που περιέχεται στην πίσσα είναι ένα ισορροπημένο μίγμα από ημικίνονες, υδροκινόνες και κινόνες.⁵⁴ Θεωρείται ότι αυτό το σύμπλεγμα επιδρά στην οξειδοαναγωγή και δημιουργεί ανιόντα υπεροξειδίου από μοριακό οξυγόνο, που οδηγούν, στη συνέχεια, στο σχηματισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου και ριζών υδροξυλίου. Οι ελεύθερες αυτές ρίζες είναι ικανές να προκαλέσουν ρήξεις στο DNA.⁵⁴ Επιπλέον, άλλες μελέτες^{55,56} υποστηρίζουν ότι ο καπνός του τσιγάρου προκαλεί θραύση του DNA σε μονές αλυσίδες στις καλλιέργειες κυττάρων ανθρώπων και τρωκτικών. Το οξειδοαναγωγικό σύστημα που συνδέεται με τις κινόνες προκαλεί, επίσης, ανάλογα αποτελέσματα. Έχει φανεί ακόμη ότι το οξείδιο του αζώτου στην αέρια φάση του δρα συνεργικά με την πίσσα του τσιγάρου, προκαλώντας ρήξη στο pBR322 πλασμιδιακό DNA.⁵⁷ Η εξήγηση γι' αυτό το αποτέλεσμα φαίνεται να προκύπτει από την ένωση του οξειδίου του αζώτου με το ανιόν του υπεροξειδίου και τη δημιουργία



Εικόνα 4. Δομή οργανικών καρκινογόνων που ευθύνονται για την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα.

υπεροξειδίου του αζώτου. Πειράματα *in vitro* δείχνουν ότι η αέρια φάση του καπνού του τσιγάρου προκαλεί οξείδωση των λιπιδίων στο ανθρώπινο πλάσμα, που ανακαίεται από το ασκορβικό οξύ.⁵⁸ Οξείδωση των καρβονυλίων είναι δυνατόν να προκαλέσει όλος ο καπνός του τσιγάρου όσο και η αέρια φάση του.⁵⁹ Έτσι, τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος είναι χαμηλότερα στους καπνιστές συγκριτικά με τους μη καπνιστές.⁶⁰ Επιπλέον, ένδειξη του οξειδωτικού κινδύνου που διατρέχουν οι καπνιστές είναι τα αυξημένα επίπεδα των προϊόντων οξείδωσης των λιπιδίων (F2-ισοπροστανία).⁶¹ Ο ρόλος του οξειδωτικού stress στην πρόκληση βλάβης στο DNA επιβεβαιώνεται ακόμη από την ύπαρξη ελαττωματικών τμημάτων του DNA, όπως 8-οξοντεοξυγουανοσίνης στους πνεύμονες καπνιστών, στα λευκοκύτταρα και στο σπέρμα.^{62,63}

Όλα όσα έχουν αναφερθεί προηγουμένως για τις οξειδωτικές ρίζες, που σχετίζονται με την καπνισματική

συνήθεια, οδηγούν σε πολλαπλές γενετικές μεταβολές των κυττάρων, οι οποίες καταλήγουν στην απενεργοποίηση κατασταλτικών ογκογονιδίων του καρκίνου και την ενεργοποίηση ογκογονιδίων, με τελικό αποτέλεσμα την εκτροπή των κυττάρων από τη φυσιολογική ανάπτυξη. Συγκεκριμένα, οι οξειδωτικές ρίζες είναι ικανές να επιδράσουν στην απόπτωση των μιτοχονδρίων, στην κυτταρική απόπτωση που προκαλείται από το *p53* γονίδιο και στην ανάπτυξη και γήρανση, που ελέγχονται από άλλα ογκογονίδια, όπως το *CKIp21* και το *PTEN*.⁶⁴⁻⁶⁷ Τελευταίες μελέτες έχουν δείξει ότι οι οξειδωτικές ρίζες που παράγονται από την υποξία κατά τη διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια οδηγούν στην απελευθέρωση του παράγοντα που αυξάνει την αγγειογένεση.⁶⁸ Επομένως, οι ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες φαίνεται να εμπλέκονται τόσο στην έναρξη της διαδικασίας της καρκινογένεσης όσο και στην πρόοδό της.

ABSTRACT

Oxidative stress and lung diseases

I. GEROGIANNI, K.I. GOURGOULIANIS

Pneumologic Clinic, University Hospital of Larissa, University of Thessalia, Larissa, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2006, 23(5):444-454

A free radical is either an atom or a group of atoms with one or several unpaired electrons at least in an outer orbital. Biologically relevant free radicals include oxygen-carbon-nitrogen-and chlorine-centered radicals. Depending on the primarily involved cellular site of production, five primarily metabolic sources of free radicals are recognizable: plasmamembrane, mitochondria, peroxisomes, endoplasmic reticulum, and cytosol. Since free radical formation is dangerous for living organisms, under normal conditions this is kept under control by the antioxidant defense system. Oxidative stress is defined as a particular kind of chemical stress induced by the presence of exaggerated amounts of free radicals which results either from their overproduction or from a reduced inability of the antioxidant defense system to respond. The lung represents a unique tissue among organs for oxidant stress, because it is directly exposed to higher oxygen tensions. A variety of lung diseases seem to be related with free radicals, such as obstructive lung disease, interstitial lung disease, sarcoidosis and other granulomatous lung disorders, asbestosis and lung cancer. As far as lung cancer is concerned, it appears that reactive oxygen species are associated with both carcinogenesis and cancer progression, as numerous investigations have shown.

Key words: Antioxidant defense system, Free radicals, Oxidative stress, Pathogenesis of lung diseases

Βιβλιογραφία

1. DA VELA G, CASINI MC, DELLA LENA R, GOZZI F. From the theoretical research to clinical practice: Free radicals in some pathological situations, usefulness, limits and perspectives. *Etruria Medica* 1995, 2:29-34
2. CORNELLI U, CORNELLI M, TERRANOVA R, LUCA S, BELCARON G. Ageing and free radicals. *Nutrition* 2000, 3:37-50
3. TANGANELLI I, CICCOLI L, BORGOGNI P, ROSSI V, GISTRI M, PETTINARI O ET AL. Markers of oxidative stress in diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2000, 50(Suppl 1):S1
4. CORNELLI U, CORNELLI M, TERRANOVA R. Free-radical and vascular disease. *The International Union of Angiology's Bulletin* 1999, 15:7-10

5. PONTIGGIA P, SILVOTTI MG, MARANO F, CUPPONE CURTO F, ROTTELLA GB, SABATO A. The role of whole hyperthermia in AIDS patients: Effects on the free radicals level. *Med Biol Environ* 1995, 23:279–282
6. PALUMBO R, CHIARETTI B, BONDANINI F, VITALIANO E, TARQUINI G, GALLIANI M ET AL. Chronic renal failure, free radicals, and the oxidant/antioxidant status. *J Am Soc Nephrol* 2000, 11:73A
7. HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford Clarendon Press, 1996
8. KINNULA VL, CRAPO JP, RAIVIO KO. Generation and disposal of reactive oxygen metabolites in the lung. *Lab Invest* 1995, 73:3–19
9. CRAPO JD, TIERNEY DF. Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity. *Am J Physiol* 1974, 226:1401–1407
10. MARKLUND SL. Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982, 79:7634–7638
11. McCORD JM, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte hemocuprein. *J Biol Chem* 1969, 244:6049–6055
12. WEISIGER RA, FRIDOVICH I. Mitochondrial superoxide dismutase: Site of synthesis and intramitochondrial localization. *J Biol Chem* 1973, 248:4793–4796
13. RAHMAN I, McNEE W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J* 2000, 16:534–554
14. CANTIN AM, NORTH SL, HUBBARD RC, CRYSTAL RG. Normal alveolar epithelial lining fluid contains high levels of glutathione. *J Appl Physiol* 1987, 63:152–157
15. PIETARINEN-RUNTI P, LAKARI E, RAIVIO KO, KINNULA VL. Expression of antioxidant enzymes in human inflammatory cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000, 278:C118–C125
16. PIETARINEN P, RAIVIO K, DEVLIN RB, CRAPO JD, CHANG LY, KINNULA VL. Catalase and glutathione reductase protection of human alveolar macrophages during oxidant exposure *in vitro*. *Am J Cell Mol Biol* 1995, 13:434–441
17. KINNULA VL, LEHTOVEN S, KAARTEENAHO-WIIK R, LAKARI E, PAAK-KO P, KANG SW ET AL. Cell specific expression of peroxiredoxins in human lung and pulmonary sarcoidosis. *Thorax* 2002, 57:157–164
18. SOINI Y, KAHLOS K, NAPANKAGAS U, KAARTEENAHO-WILK R, SAILY M, KOISTINEN P ET AL. Widespread expression of thioredoxin and thioredoxin reductase in non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001, 7:1750–1757
19. CORRADI M, MONTUSCHI P, DONNELLY LE, PESCI A, KHARITONOV SA, BARNES PJ. Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163:854–858
20. CRAPO JD, DAY BJ. Modulation of nitric oxide responses in asthma by extracellular antioxidants. *J Allergy Clin Immunol* 1999, 104:743–746
21. HANAZAVA T, KHARITONOV SA, BARNES PJ. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate of patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 162:1273–1276
22. HORVATH I, DONNELLY LE, KISS A, KHARITONOV SA, LIM S, FANCK ET AL. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 158:1042–1046
23. KHARITONOV SA, BARNES PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163:1693–1722
24. BARNES PJ, LIEW FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunol Today* 1995, 16:128–130
25. ICHINOSE M, SUGIORA H, YAMAGATA S, KOARAI A, SHIRATO K. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 162:701–706
26. PAREDI P, KHARITONOV SA, LEAK D, WARD S, CRAMER D, BARNES PJ. Exhaled ethane, a marker of lipid peroxidation, is elevated in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 162:36–373
27. SAETTA M, TURATO G, MAESTRELLI P, MAPP CE, FABBRI LM. Cellular and structural bases of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163:1304–1309
28. KATZENSTEIN AL, MYERS JL. Idiopathic pulmonary fibrosis: Clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157:1301–1315
29. AMERICAN THORACIC SOCIETY (ATS) AND EUROPEAN RESPIRATORY SOCIETY (ERS). American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 165:A277
30. GROSS TJ, HUNNINGHAKE GW. Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2001, 345:517–525
31. BOROK Z, BUHL R, GRIMES GJ, BOKSER AD, HUBBARD RC, HOLROYD KJ ET AL. Effect of glutathione aerosol on oxidant-antioxidant imbalance in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet* 1991, 338:215–226
32. CANTIN AM, NORTH SL, FELS GA, HUBBARD RC, CRYSTAL R. Oxidant mediated epithelial cell injury in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1987, 79:1665–1673
33. NEMERY B, BAST A, BEHR J, BORM PJ, CANUS PH, DE VUYST P ET AL. Interstitial lung disease induced by exogenous agents: Factors governing susceptibility. *Eur Respir J* 2001, 32(Suppl):30s–42s
34. SHERSON D, NIELSEN H, FREDERIKSEN J, MILMAN N, STRUVE-CHRISTENSEN E, PETERSEN BN. Superoxide anion release from blood monocytes and alveolar macrophages in patients with diffuse lung fibrosis. *APMIS* 1992, 100:408–414
35. STRAUSS J, MULLER-QUERNHEIM J, STEPLING H, FERLINZ R. Oxygen radical production by alveolar inflammatory cells in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1990, 141:124–128
36. SALEH D, BARNES PJ, GIAID A. Increased production of the potent oxidant peroxyxynitrite in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997, 155:1763–1769
37. CASATELLA MA, BERTON G, AGOSTINI C, ZAMBELO R, TRENTIN L, CIPRIANI A ET AL. Generation of superoxide anion by alveolar macrophages in sarcoidosis: Evidence for the activation of the oxygen metabolism in patients with high-intensity alveolitis. *Immunology* 1989, 66:451–458

38. BEHR J, DEGENKOLB B, BEINERT T, KROMBACH F, VOGELMEIR C. Pulmonary glutathione levels in acute episodes of farmer's lung. *Am J Resp Crit Care Med* 2000, 161:1968–1971
39. KAMP DW, GRACEFFA P, PRYOR WA, WEITZMAN SA. The role of free radicals in asbestos induced diseases. *Free Radic Biol Med* 1992, 12:293–315
40. KINNULA VL. Oxidant and antioxidant mechanisms of lung disease caused by asbestos fibers. *Eur Respir J* 1999, 14:706–716
41. OURY TD, DAY BJ, CRAPO JD. Extracellular superoxide dismutase: A regulator of nitric oxide bioavailability. *Lab Invest* 1996, 75:617–636
42. HADDAD IY, ISCHIROPOULOS H, HOLM BA, BECKMAN JS, BAKER JR, MATALON S. Mechanisms of peroxynitrite-induced injury to pulmonary surfactants. *Am J Physiol* 1993, 265:L555–L564
43. KHALIL N. TGF-beta: From latent to active. *Microbes Infect* 1999, 1:1255–1263
44. JOBE AH, BANCALARI E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Resp Crit Care Med* 2001, 163:1723–1729
45. ARCHER S, RICH S. Primary pulmonary hypertension: A vascular biology and translational research “work in progress”. *Circulation* 2000, 102:2781–2791
46. BALINT B, KHARITONOV SA, HANAZAWA T, DONNELLY LE, SHAH PL, HODSON ME ET AL. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate in cystic fibrosis. *Eur Resp* 2001, 17:1201–1207
47. KINNULA VL, SARNESTO A, HEIKKILA L, TOINOVEN H, MATTILA S, RAIMIO KO. Assessment of xanthine oxidase in human lung and lung transplantation. *Eur Res J* 1997, 10:676–680
48. LUNA MA, BEDROSSIAN CW, LICHTIGER B, SALEM PA. Interstitial pneumonitis associated with bleomycin therapy. *Am J Clin Pathol* 1972, 58:501–510
49. HOFFMAN D, HECHT SS. Advances in tobacco carcinogenesis. In: Cooper CS, Grover PL (eds) *Handbook of experimental pharmacology*. Vol 94/1. Springer Verlag, Heidelberg, Germany, 1990:63–102
50. HOFFMANN D, HOFFMANN I. The changing cigarette, 1950–1995. *J Toxicol Environ Health* 1997, 50:307–364
51. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Tobacco smoking. In: *IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans*. Vol 38. IARC, Lyon, France, 1986:37–375
52. PRYOR WA. Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. *Environ Health Perspect* 1997, 105(Suppl 4):875–882
53. PRYOR WA, HALES BJ, PREMOVIC PI, CHURCH DF. The radicals in cigarette tar: Their nature and suggested physiological implications. *Science* 1983, 220:425–427
54. PRYOR WA, STONE K, ZANG LY, BERMUDEZ E. Fractionation of aqueous cigarette tar extracts: Fractions that contain the tar radical cause DNA damage. *Chem Res Toxicol* 1998, 11:441–448
55. LEANDERSON P, TAGESSON C. Cigarette smoke-induced DNA-damage: Role of hydroquinone and catechol in the formation of the oxidative DNA-adduct, 8-hydroxydeoxyguanosine. *Chem Biol Interact* 1990, 75:71–81
56. LEANDERSON P, TAGESSON C. Cigarette smoke-induced DNA damage in cultured human lung cells: Role of hydroxyl radicals and endonuclease activation. *Chem Biol Interact* 1992, 81:197–208
57. YOSHIE Y, OSHIMA H. Synergistic induction of DNA strand breakage by cigarette tar and nitric oxide. *Carcinogenesis* 1997, 18:1359–1363
58. FREI B, FORTE TM, AMES BN, CROSS CE. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein proteins in human blood plasma. Protective effects of ascorbic acid. *Biochem J* 1991, 277:133–138
59. REZNICK AZ, CROSS CE, HU ML, SUZUKI YZ, KHWAJA S, SAFADI A ET AL. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *Biochem J* 1992, 286:607–611
60. SCHECHTMAN G, BYRD JC, HOFFMANN R. Ascorbic acid requirements for smokers: Analysis of a population survey. *Am J Clin Nutr* 1991, 53:1466–1470
61. MORROW JD, FREI B, LONGMIRE AW, GAZIANO JM, SHYR Y. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med* 1995, 332:1198–1203
62. ASAMI S, MANABE H, MIYAKE J, TSURUDOME Y, YAMAGUCHI R. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis* 1997, 18:1763–1766
63. ASAMI S, HIRANO T, YAMAGUSCI Y, TOMIOKA Y, KASAI H. Increase of a type of oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, and its repair activity in human leukocytes by cigarette smoking. *Cancer Res* 1996, 56:2546–2549
64. CHUANG YY, CHEN Y, GADISSET I, CHANDRAMOULI VR, COOK JA. Gene expression after treatment with hydrogen peroxide, menadione, or t-butyl hydroperoxide in breast cancer cells. *Cancer Res* 2002, 62:6246–6254
65. GRANVILLE DJ, CARTHY CM, HUNT DW, McMANUS BM. Apoptosis: Molecular aspects of cell death and disease. *Lab Invest* 1998, 78:893–913
66. LEE SR, YANG KS, KWON J, LEE C, JEONG W, RHEE SG. Reversible inactivation of the tumor suppressor *PTEN* by H₂O₂. *J Biol Chem* 2002, 277:20336–20342
67. PANI G, BEDOGNI B, ANZEVINO R, COLAVITTI R, PALAZZOTTI B, BORRELLO S ET AL. Deregulated manganese superoxide dismutase expression and resistance to oxidative injury in p5-deficient cells. *Cancer Res* 2000, 60:4654–4660
68. CHANDEL NS, SCHUMACHER PT. Cellular oxygen sensing by mitochondria: Old questions, new insight. *J Physiol* 2000, 88:1880–1889

Corresponding author:

I. Gerogianni, Pneumologic Clinic, University Hospital of Larissa, GR-412 22 Larissa, Greece
e-mail: igerogianni@yahoo.gr