



EL PULMÓN COMO ÓRGANO DIANA DEL ESTRÉS OXIDATIVO. RADICALES LIBRES Y ESPECIES ACTIVAS DEL OXÍGENO.

D. Romero Alvira, M.P. Villalba Martín*, A. Sebastian Ariño, F. Cabeza Lambán y M. Mur Villacampa.

Servicio de Cardiología. Hospital de Calatayud. Instituto Nacional de la Salud. Zaragoza.

Introducción

El delicado equilibrio que existe entre los diferentes estados pro-oxidantes y los mecanismos defensivos anti-oxidantes está adquiriendo de día en día una mayor importancia en muchos campos médicos. La neumología no es una excepción, ya que el pulmón, dadas sus múltiples, variadas y complejas funciones, fundamentales para el mantenimiento del medio interno, para el intercambio gaseoso, para la producción de prostaciclina, para la modulación de la enzima convertidora, para la inactivación de monoaminas, para la regulación del metabolismo del ácido araquidónico por los esteroides antiinflamatorios, etc, es frecuentemente órgano diana de los radicales libres de oxígeno (RLO) con las diversas consecuencias patológicas conocidas. Las nuevas iniciativas en la concepción fisiopatológica a buen seguro podrán inducir iniciativas terapéuticas, que tengan como fin intentar restablecer el equilibrio perdido entre pro-oxidación y anti-oxidación.

En la tabla I se presentan algunos de los procesos neumológicos relacionados al menos en parte con los RLO; es indudable que tal relación irá incrementándose en el futuro y otros padecimientos pulmonares encontrarán su explicación en el contexto de la pro-oxidación y la anti-oxidación.

Muchos agentes pueden realizar efectos tóxicos sobre los pulmones, a través de la producción de radicales libres y especies activas del oxígeno; entre tales agentes tenemos: las radiaciones ionizantes, los gases tóxicos oxidantes (NO₂, SO₂, etc), el paraquat, la bleomicina, la nitrofurantoina, etc. y situaciones clínicas caracterizadas por la activación de los polimorfonucleares, como sucede en el shock, sepsis, traumatismos y diversos estados relacionados con la inmunidad^{1-10, 98}

En 1986, Bladwing¹¹ ha comunicado la presencia de una especie activa de oxígeno (el peróxido de hidrógeno [H₂O₂]) en el aire exhalado por pacientes con síndrome del distrés respiratorio del adulto (SDRA); como bien sabemos, tal síndrome se caracteriza por una inflamación aguda difusa con progresivo deterioro de la membrana alveolo-capilar.

La presencia de pentano en el aire exhalado por los pacientes que sufrieron el síndrome del aceite tóxico (SAT)¹²⁻¹⁵, pone de manifiesto que una intensa peroxidación lipídica tuvo lugar en ellos, dando como resultado una pérdida del equilibrio entre pro-oxidación y anti-oxidación. Así mismo, las neumoconiosis producidas por diversas partículas minerales, como por ejemplo, en el caso del asbesto, pueden ser producidas por inhibición de las superóxido dismutasas (SOD) que eliminan la citotoxicidad del radical superóxido¹⁶⁻²¹.

De los procesos neumológicos, que en la actualidad se conocen, relacionados con los radicales libres y especies activas del oxígeno (RLO) citados en la tabla I, entre ellos tenemos situaciones tan frecuentes como es la EPOC, los tumores, los efectos citotóxicos del oxígeno y los daños inducidos por los cigarrillos, resultando cada vez más obvio el hecho de la relación de los RLO en la patología neumológica y la necesidad de mantener el estado de equilibrio estacionario entre pro-oxidación y anti-oxidación. Así mismo hay fármacos entre los que cabe citar: adriamicina, doxorubicina, daunorrubicina, mitocina C, tetraciclina, cloranfenicol, primaquina, cloroquina, metronidazol, nitrofurantoina, furosemida, etc, pueden por sí mismo RLO o transformarse en radicales libres²²⁻²⁵.

En este trabajo nos centraremos en el SDRA, la EPOC, la inflamación y las prostaglandinas, la fibrogenesis y las neoplasias, como áreas de conocimiento relacionadas a nivel del aparato respiratorio con los RLO, pero antes se harán unas consideraciones respecto a los efectos citotóxicos del oxígeno y a los

* Médico residente. Clínica Puerta de Hierro. Madrid.



TABLA I
Situaciones neumológicas relacionadas al menos en parte con los RLO

1) Amiloidosis.
2) Asma bronquial.
3) Aspiración pulmonar de meconio.
4) Cáncer y metástasis.
5) Colagenosis (S. de Goodpasture, angeitis granulomatosa, LES) (alveolitis fibrosante asociada a enfermedades del colágeno.).
6) Contaminantes atmosféricos oxidantes. (NO ₂ , SO ₂ , etc.).
7) Displasia broncopulmonar.
8) Edema pulmonar de las grandes alturas. (HAPE).
9) Efecto del humo de los cigarrillos.
10) Envejecimiento.
11) EPOC (tipo enfisema).
12) Hemosiderosis pulmonar idiopática.
13) Hiperoxia e hipoxia (aguda y crónica).
14) Hipertensión pulmonar.
15) Neumonitis intersticial por radiaciones ionizantes.
16) Neumonitis por polvos minerales (asbesto, sílice, aluminio, etc.).
17) Procesos fibrosantes iatrogénicos.
18) Procesos autoinmunes.
19) Reacciones inducidas por tóxicos y medicamentos.
20) S. del distress respiratorio del adulto (SDRA).
21) S. del distress respiratorio del recién nacido (SDRRN).
22) Toxicidad por bleomicina, nitrofurantoina, amiodarona, etc.
23) Toxicidad por paraquat y diquat.
24) S. del aceite tóxico (SAT).
25) Sobrecargas de hierro (hemocromatosis idiopática, etc.).

TABLA II
Mecanismos intracelulares de producción de radicales libres de oxígeno

1) Cadena de transporte de electrones a nivel mitocondrial.
2) Cadena de transporte de electrones a nivel microsomal.
3) Cadena de transporte de electrones en los cloroplastos.
4) Enzimas oxidantes.
5) Células fagocíticas.
6) Reacciones de auto-oxidación.

cambios anatomopatológicos que se producen en el lecho vascular pulmonar por la hipoxia.

Efectos citotóxicos del oxígeno

Los mecanismos por los que pueden inducir estados prooxidantes son diversos y sus características dependen del agente inductor y de la respuesta de las células²⁶, así: el oxígeno hiperbárico, las radiaciones ionizantes, las reacciones en presencia de hierro tipo Fenton (de la que trataremos más adelante)²⁷, la cadena de transporte mitocondrial de electrones que puede liberar pequeñas cantidades de especies activas del oxígeno que producen daños en los lípidos y citocromos, los fármacos que inducen proliferación de peroxisomas como el clofibrato, nafenopina y el di(2-etilhexil) ftalato, los inhibidores del sistema defensivo antioxidante, como son la azida, la hidroxilamina, la aminotriazole que inhiben las catalasas y el ácido ditiocarbámico que inhibe la SOD, los agentes activos sobre las membranas celulares y que son importantes bajo el punto de vista de la carcinogénesis, entre los que tenemos lectinas, teleocidinas, mezerinas, la aflatoxina B₁, el benzopireno, el asbesto, la silice^{18, 21, 28-33}.

La producción de especies activas del O₂, es la mejor explicación bioquímica y molecular para comprender los daños asociados con la hiperoxia. En la actualidad, todavía se desconocen intimamente los mecanismos responsables, pero la clave del problema tal vez se encuentre en la gran susceptibilidad que ante las especies activas del oxígeno tienen los lípidos de las membranas, las enzimas, los ácidos nucleicos y las proteínas³⁴. En la tabla II se citan las fuentes intracelulares de RLO; se sabe que en respuesta a la hiperoxia se producen incrementos en las cantidades de O₂, H₂O₂ y OH^{35, 36}. Muchas células tienen poderosos sistemas antioxidantes enzimáticos, por ejemplo: el conjunto de las SOD, a las cuales ya nos referiremos en la primera parte en el apartado de química y producción de RLO lo mismo que a las catalasas. Tanto las catalasas como la glutatión peroxidasa (GSH-P) se encargan de la degradación del peróxido de hidrógeno, pero cuando el radical superóxido (O₂) y el H₂O₂ no son degradados, se puede formar el radical hidroxilo (OH), que es el más poderoso agente oxidante y para el que además, no existe ninguna enzima celular que lo elimine³⁷. El peróxido de hidrógeno puede reaccionar con la mieloperoxidasa y formar ácido hipocloroso, o con los ácidos grasos poliinsaturados para formar peróxidos lípidos (radicales)³⁸⁻⁴⁰; estos radicales pueden descomponerse posteriormente, formando malondialdehído, que puede romper y dañar grupos amino libres de proteínas, ácidos nucleicos y fosfolípidos. Los citados peróxidos lipídicos también pueden transformados en compuestos menos tóxicos, como son los hidroxiácidos grasos, por medio de la GSH-P⁴¹.

Las especies activas del oxígeno pueden contribuir a los daños pulmonares por otras vías indirectas como son: 1) por la producción de un incremento en la presión de perfusión, 2) por la génesis de tromboxano A₂ y 3) por la inactivación de las antiproteasas pulmonares⁴²⁻⁴⁴.

Los efectos citotóxicos del oxígeno se observan después de dar 12 horas O₂ al 100 % o en las cámaras hiperbáricas. En la hiperoxia se producen aumentos de las cantidades del anión superóxido (O₂), del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y del radical hidroxilo (OH), que producen distintos daños e incluso muerte celular. En el pulmón, las alteraciones son particularmente graves a nivel del endotelio vascular y del epitelio alveolar, pudiendo producir SDRA⁴⁵; el oxígeno al 50 % puede ser tolerado durante 1 semana. Es de particular importancia la toxicidad crónica del O₂ en los niños, ya que puede producir displasia broncopulmonar caracterizada por la proliferación de fibroblastos, con aumento de la síntesis de colágeno, áreas de fibrosis y bullas⁴⁶.

En 1977, un trabajo de Cross y Hasegawa⁴⁷ indicaba como se producían mayores daños de citotoxicidad pulmonar por el oxígeno en ratas con déficit de selenio. A nivel de la neumología es muy importante la información referente a la enzima antioxidante glutatión peroxidasa, descubierta en 1957 por Mills⁴⁸, en cuyo grupo prostético se encuentra la seleno-cistei-



na⁴⁹. La síntesis de GSH está relacionada con la N-acetil-cisteína, que como vemos en la tabla III es un anti-oxidante no enzimático lo mismo que el selenio. La GSH-P está involucrada en la reducción de los ésteres de hidroperóxidos de ácidos grasos⁵⁰, a nivel mitocondrial previene la peroxidación lipídica⁵¹, así como la degradación oxidativa de los fosfolípidos y la formación concomitante de malonaldehído⁵², por último Omaye et al⁵³, en 1975 observaron que cuando se producía la inhibición de GSH por medio de la administración repetida de sales de cadmio, se producía una acumulación de los productos de degradación de los lípidos insaturados.

La relación de la GSH-P con los procesos mutagénicos, fué apuntada en primera instancia en 1969 por Christophersen⁵⁴, cuando observó que reaccionaba con los hidroperóxidos de los ácidos nucleicos y sus precursores. Pero fue en 1976, cuando Thomas et al⁵⁵ identificaron que el hidroperóxido de timidina, que también es eliminado por GSH-P, era un potente mutágeno. El interés, por la facultad de la GSH-P para eliminar mutágenos, se refuerza por el hecho que relaciona los suplementos de selenio con la disminución de incidencia de cáncer⁵⁶⁻⁶¹. La GSH-P protege las inestables fuentes de prostaglandinas (ácido araquidónico y otros ácidos grasos poliinsaturados), contra la degradación oxidativa inespecífica y se puede decir que la GSH-P junto con la catalasa, las SOD y probablemente el alfa tocoferol, forman un conjunto defensivo eficaz que garantiza la disponibilidad de estos sustratos indispensables⁶². La tolerancia al oxígeno depende de los antioxidantes (SOD, GSH, ceruloplasmina, tocoferoles, etc), y se pretende mejorar por medio de incrementar las cantidades de Cu-Zn SOD⁶³.

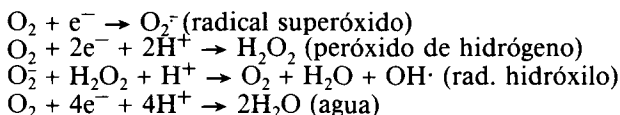
Hay aspectos químicos básicos como son la producción de RLO, el reactivo de Fenton, la importancia del hierro en las reacciones de RLO, la peroxidación lipídica, a los que nos referiremos brevemente.

Química y producción de los RLO

a) Definición de radical libre.

Un radical libre es aquella especie química cargada o no, que tiene en su estructura al menos un electrón desapareado. Se representa con un punto a la derecha del símbolo.

Los mamíferos obtienen la mayor parte de su ATP celular por medio de un sistema en el que intervienen 4 electrones, que reduce el O₂ para formar H₂; tal reducción tienen lugar en el sistema mitocondrial de transporte de electrones⁴ produciéndose a lo largo de dicha reducción las especies activadas del oxígeno como podemos ver a continuación:



Las especies activas del oxígeno (reducidas) tienen sus correspondientes sistemas enzimáticos intracelu-

TABLA III
Antioxidantes no enzimáticos^{66, 69, 99}

La albúmina
El alopurinol
Aminoácidos azufrados (cisteína, cisteamina, cisteinilglicina, glutation)
El ac. 5-ASA
El ac. benzoico
El ac. cítrico
El ac. gálico-fórmico
La bilirrubina
El butihidroxianol
Los carotenoides
Los ubiquinonas o coenzimas Q (dihidroxiquinolinas)
El 2-5 dimetil furano
El dimetoxi-etano
Distintos ac. grasos (oléico, linoléico, linolénico y araquidónico)
Las glicoproteínas de la mucosa gástrica y bronquial
La glucosa
La haptoglobina-hemopexina
El hidroxitolueno butilado
El manitol-metionina
La N-acetil cisteína
El probucol
La prometazina
TMMP (2, 3, 5, 6, tetrametil-4-metoxifenol)
La taurina
La transferrina-lactoferrina
TBHQ
El selenio sinérgicamente con la vitamina E
Los tocoferoles
ABTS (2,2-azino bis-(3-etilbenzotiazolina-6 sulfonato)
El ac. ascórbico
El ac. cafeico
El ac. fosfórico
El ac. nordihidroxiaguairético
La dimetil-tiourea (DMTU)
El butanol
La ceruloplasmina-esquizandrina-B
El etanol
El diazabicyclooctano
El dimetil sulfóxido
HDC (6 hidroxil-1-4-dimetilcarbazole)
Las hidroquinonas
La histidina
NADH
El pentaeritritol
PMHC (pentametilhdroxicromano)
La salazopirina
El tungsteno
El Trolox C
El Topanol 345
Los tioles, tioéteres, etc.

lares que las neutralizan y de los que hablaremos más adelante, por extensión las sustancias, ya sean de naturaleza enzimática o no enzimática (tabla III).

Biológicamente, las oxidaciones son casi siempre promovidas por el hierro, que como el cobre, es un metal de transición ubicuitario, con un sistema d-electrón lábil. Los metales de transición pueden iniciar la peroxidación de los lípidos, por simple transferencia de electrones o abstracción de hidrógeno, por interacción de cofactores flavínicos, por transferencia de un oxeno desde el oxígeno hasta el ión metálico (Fe, Mn, Mo, Cu), con la formación de exocaciones del tipo $\text{Fe}^{+5} = \text{O}^{-2}$ ^{64,65}.

Entre los numerosos sistemas que contienen hierro tenemos: enzimas (lipooxigenasa, ciclooxigenasa y las

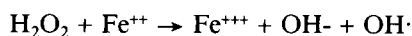
peroxidasas) y compuestos (citocromo P₄₅₀, hemoglobina y mioglobina).

Más información sobre las bases bioquímicas de los RLO y los antioxidantes ha sido ampliamente detallada en algunos trabajos anteriores de nuestro grupo^{19, 66-69} (tablas III, IV y V).

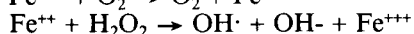
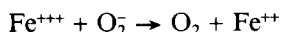
b) Reactivo de Fenton

Habitualmente, el oxígeno se encuentra en su forma más estable, la molécula diatómica O₂ con los electrones que forman el enlace π antienlazante con el mismo espín, es decir, en lo que se conoce como estado triplete. En esta forma, el oxígeno es sólo moderadamente reactivo, de tal modo que su velocidad de reacción con la mayoría de los compuestos biológicos es, a las temperaturas fisiológicas, inapreciablemente baja.

Sin embargo, en determinadas condiciones, por reacciones puramente químicas, por acción enzimática ó por efecto de las radiaciones ionizantes, pueden producirse una serie de especies químicas (moléculas ó radicales libres altamente reactivos⁷⁰ capaces de dar lugar a múltiples reacciones con otros compuestos presentes en el organismo, y consecuentemente, llegar a producir daño celular. Uno de los procesos más importantes de producción de radical hidroxilo es la reducción del agua oxigenada por ciertos iones metálicos, en especial por abundante el ión ferroso (Fe⁺⁺). La mezcla de peróxido de hidrógeno H₂O₂ y Fe⁺⁺ se conoce como reactivo de Fenton, quien ya indicó, en 1894, que esta mezcla era capaz de oxidar al ácido málico⁷¹. En 1934 Haber y Weiss proponen como mecanismo de reacción la formación de radicales hidróxilo



Esta reacción, también puede tener lugar con otros metales aparte del ión ferroso, aunque en los sistemas biológicos, éste parece ser el más importante^{67, 76}, aportado por la transferrina^{72, 73}, lactoferrina⁷⁴, hemoglobina⁷⁵ ó ferritina²⁸. El hierro, inicialmente en forma de iones férricos (Fe⁺⁺⁺) reaccionaría con el radical peróxido, y el ión ferroso formado lo haría entonces con el peróxido de hidrógeno⁽²⁸⁾.



Esta pareja de reacciones es un mecanismo importante de formación de radicales hidróxilo (OH·) a partir del superóxido, ya que como se ha visto este último se dismuta fácilmente produciendo agua oxigenada, de modo que cualquier reacción que produjera (O₂⁻), producirá en última instancia (OH·), a menos que existiera algún sistema específico de eliminación.

c) Importancia del hierro en las reacciones de RLO

Hay al menos tres aspectos en los que el hierro participa en la producción de estrés oxidativo: 1) El hierro, facilita la descomposición de peróxidos lipídicos, dando lugar a la formación de muchos productos, entre los que tenemos aldehidos citotóxicos (p.ej.:

TABLA IV
Enzimas y células que participan en la producción de radicales libres

- 1) Enzimas oxidantes involucradas.
 - a) Ciclo-oxigenasa.
 - b) Galactosa-oxidasa.
 - c) Indolamin-dioxigenasa.
 - d) Lipo-oxigenasa, mieloperoxidasa.
 - e) Monoamino-oxidasa.
 - f) Xantín-oxidasa.
 - g) Triptófano-dioxigenasa.
- 2) Células fagocíticas.
 - a) C. endoteliales.
 - b) Eosinófilos.
 - c) Macrófagos.
 - d) Monocitos.
 - e) Neutrófilos.

TABLA V

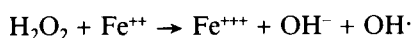
Sustancias biológicamente activas que intervienen en los procesos de reparación^{172, 192-196}

- 1) Factores quimiotactivos.
- 2) Mediadores vasoactivos.
- 3) Factores de crecimiento de los fibroblastos.
- 4) Factores angiogénicos para la proliferación capilar.
- 5) Fibronectina.
- 6) Colagenasa para remodelar la zona dañada.

Cinética celular en la reparación de los daños pulmonares por los RLO^{197, 212, 216, 217, 241-248}

- 1) Proliferación de las células alveolares epiteliales.
- 2) Proliferación de las células endoteliales capilares.
- 3) Proliferación de las células intersticiales.
- 4) Proliferación de las células pulmonares durante la hiperoxia.

malonaldehido) e hidrocarburos (etano, pentano, etc). 2) El hierro promueve la generación de radical hidróxilo (OH·), a partir del peróxido de hidrógeno (H₂O₂), por medio de la reacción:



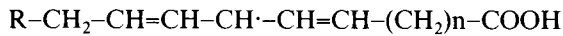
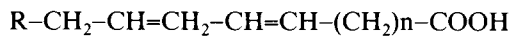
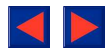
3º) Está involucrado en la producción de radical superóxido (O₂⁻) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂), por medio de catalizar la oxidación no enzimática de moléculas como la adrenalina y el glutatión.

d) Peroxidación lipídica.

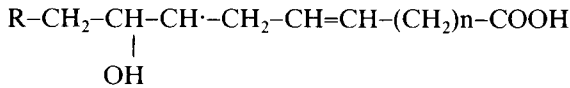
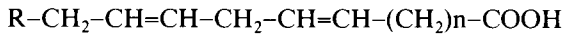
Las especies activas del oxígeno (O₂⁻), (H₂O₂) y (OH·), consideradas como "inicializadores de la oxidación", si no son eliminados en su compartimento de producción por su sistema antioxidante específico, pueden inducir la formación de nuevos RLO por medio de un estrés oxidativo sobre las porciones lipídicas de las membranas celulares.

Los lípidos son compuestos químicos, fundamentales y ubicuitarios en la arquitectura celular y sobre ellos tiene lugar el estrés oxidativo, por medio de las distintas especies activas del oxígeno (por ejemplo, el radical hidróxilo).

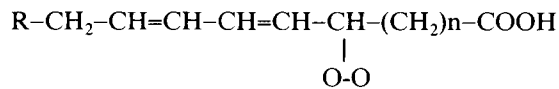
El inicio de la peroxidación lipídica se produce por la abstracción de un hidrogenión del ácido graso:



O por medio de la adición



El radical de ácido graso así formado puede reaccionar con la molécula de O_2 , después de una conjugación de los dobles enlaces.



Los RLO formados con los componentes lipídicos de las membranas celular y mitocondrial son los causantes de los efectos citóxicos.⁷⁷

Los mecanismos intracelulares de producción de RLO se citan en la tabla IV y los distintos mecanismos de acción de las diversas sustancias enzimáticas y no enzimáticas existentes, que por la limitación de espacio de un artículo no pueden ser presentadas, no obstante se señalan a continuación una serie de trabajos donde el lector interesado podrá obtener información pertinente al respecto^{4, 77, 62, 92, 185}

Un hecho importante: la hipoxia y el lecho vascular pulmonar. Cambios anatomopatológicos.

En la superficie epitelial de la vía aérea, hay 8 tipos de células: basales, Kulchitsky, ciliadas, intermedias o indiferenciadas, en cepillo o brocha, mucosas, serosas y de Clara, mientras que en el espacio intersticial alveolar se encuentran los fibroblastos y los miofibroblastos. Los vasos sanguíneos adicionalmente incluyen, células endoteliales, células musculares lisas (CML), células intermedias y pericitos. El músculo liso bronquial es sin duda un subtipo de CML con diferentes receptores que las CML vasculares.

El lecho vascular pulmonar se remodela estructuralmente como respuesta a la hipoxia, manifestando inmediatos incrementos de la presión en la arteria pulmonar⁷⁸⁻⁸⁰. Las arterias no musculares o parcialmente musculares, presentan un cambio ultraestructural, en el que las células endoteliales aumentan de tamaño y aparece una nueva capa de células dentro de la lámina elástica; tales células intermedias y pericitos pueden aumentar de volumen y por otro lado los pericitos pueden desarrollar células intermedias y las células intermedias se pueden diferenciar a células musculares lisas; después de 10 días, las arterias no son distin-

guibles de aquellas que normalmente son musculares⁸¹. Por medio de estudios con timidina tritiada, se ha analizado la actividad mitótica de estas células y se ha apreciado gran incremento de la misma a los cinco días⁸².

Las arterias musculares, durante la hipoxia sufren un incremento de grosor de la adventicia y de la media, a expensas de un acúmulo de colágeno⁸³. En la capa media, el índice mitótico de las células musculares aumenta, pero es en la adventicia donde tiene lugar, por medio de los fibroblastos, el mayor aumento de colágeno. La recuperación, después de volver a tensiones de oxígeno normales, puede tardar meses, pues aunque hay una disminución de las presiones pulmonares, éstas persisten significativamente elevadas.

En las arterias musculares pre-acinadas, después de 10 días de hipoxia seguidos de 70 días normales, se advierte una normalización del espesor de la adventicia y de la media (células musculares lisas y fibroblastos), permaneciendo el colágeno significativamente aumentado⁸³.

Por tanto, la remodelación que tiene lugar en la unión alveolo-capilar en relación con la hipoxia es a partir de su aumento en CML⁸¹, mientras que en el segmento arterial pre-acinar, la remodelación es a partir de mayor cantidad de colágeno tanto en la adventicia como en la media⁸³.

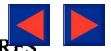
Fibrogénesis

La fibrogénesis es una forma de reparar los daños del estrés oxidativo; hay otros mecanismos de reparación ante los RLO se realizan por medio de: producir hipertrofias de las células endoteliales vasculares¹⁸⁵ de la GSH-P^{86, 87}, y por aumento del contenido celular de la matriz intersticial^{85, 89}. A nivel bioquímico, la reparación también produce incrementos en las cantidades pulmonares de colágeno, glucosaminoglicanos, fibronectina e hidroxiprolina⁹⁰⁻⁹⁵.

La esclerosis sistémica progresiva es una enfermedad que se caracteriza por la presencia de manifestaciones en innumerables órganos tales como pulmón, corazón, riñón y vías biliares, dependiendo la severidad de la afectación visceral.

Hay personas expuestas al cloruro de polivinilo que pueden presentar fenómenos de Raynaud, acroosteolisis y lesiones cutáneas, los trabajadores de la minería del carbón y del oro también padecen más esclerodermia, lo cual sugiere que el polvo de sílice pueda ser factor predisponente; además tales trabajadores también presentan fibrosis hepática y angiosarcoma. En enfermos que reciben el analgésico pentazocina se han detectado esclerosis extensas en la dermis y tejido celular subcutáneo. Por último la bleomicina produce nódulos fibróticos en piel y puede producir tales alteraciones a través de los RLO^{88, 96}.

La enfermedad pulmonar intersticial difusa (EPID), bajo cuya denominación se agrupan en la actualidad un grupo amplio y heterogéneo de patologías, con un contexto fisiopatológico, clínico y radiológico común⁹⁷, en la que resulta evidente la presencia de



procesos inflamatorios caracterizados por la acumulación crónica de células inflamatorias en los alveolos (alveolitis) y alteraciones en el colágeno intersticial (fibrosis), con degradación progresiva de la unidad alveolo-capilar.

En las secuelas del síndrome de aceite tóxico, también se han descrito entre otras, las alteraciones cutáneas en forma de esclerodermia y la hipertensión pulmonar con fibrosis pulmonar; tales secuelas junto con la comunicación de que los pacientes ingresados por el citado síndrome emitían grandes cantidades de pentano en el aire espirado¹⁴, indican que una brutal peroxidación lipídica tuvo lugar, superando las capacidades antioxidantes de los afectados¹⁹, pues hidrocarburos como el etano y el pentano aparecen en mayores cantidades cuanto mayor es la magnitud de la peroxidación lipídica¹⁰⁰ y todo ello se encuentra relacionado con los RLO.

Con respecto a la fibrogénesis, y a modo de introducción, también se ha observado que animales alimentados con dietas deficientes en tocoferoles a los que se les administraba etano, eliminaban mayores cantidades de pentano en su respiración¹⁰¹, prueba evidente de que la "cascada de la peroxidación lipídica" se había desequilibrado.

Además, en relación con el malonaldehído (producido durante la «cascada de peroxidación lipídica») decir que puede dar lugar a alteraciones y polimerizaciones diversas de macromoléculas de las membranas, alterando las propiedades de las mismas (alterando el citoesqueleto -deformabilidad- y la permeabilidad -transporte de iones)¹⁰² y finalmente decir que una causa importante que produce aumento de colágeno en los tejidos es el descenso de su degradación. Entre el 15 y el 40 % del colágeno producido es destruido en minutos, cuando se encuentra dentro de las células¹⁰³; tal proceso se incrementa cuando el procolágeno no es hidroxilado, pues no adopta la estructura helicoidal y no es excretado. Los productos de su degradación frenan la síntesis a nivel transcripcional y translacional en un proceso en que intervienen el AMP cíclico y las prostaglandinas^{104, 105}. Actúan estimulando la transcripción genética: el beta TGF (factor beta transformador del crecimiento de fibroblastos), el acetaldehído, el malonaldehído y los lipoperóxidos. Por ello la administración de *scavengers* como los tocoferoles, el dimetilsulfósido, el azul de metileno, las SOD, las catalasas o la GSH (glutathion peroxidasa), bien pudieran impedir la transcripción de RNAm procolágeno. En el punto de frenar el proceso genético de transcripción se puede emplear el AMP-c, el Ca⁺⁺, la vitamina A, el forbol, los beta-adrenérgicos, el interferón, la CCK y las prostaglandinas^{106, 107}.

El colágeno se degrada por medio de las colagenasas, que pertenecen al grupo de las metaloenzimas¹⁰⁸⁻¹⁰⁹ y los fragmentos resultantes son degradados por diversas proteasas. La producción de colagenasa es estimulada por el TNF-alfa (factor alfa necrosante tumoral), la IL-1 (interleuquina 1) y el forbol¹¹⁰. La colagenasa se secreta en forma inactiva y su activación puede ser realizada por las siguientes enzimas

proteolíticas: la quimiotripsina, catpsina B, tripsina, caliceína y plasminina¹¹¹; tales proteasas a su vez son activadas por la citocalasina B, la colchicina y las linfoquinas^{112, 113}. La activación de la colagenasa puede ser inhibida por la beta globulina, la alfa-2 macroglobulina, los esteroides, la fenitoina y el ácido retinóico^{114, 115, 116}.

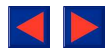
En 1988 se ha comunicado que la IL-1 induce a nivel mitocondrial la formación de la Mn-SOD (superóxido dismutasa que contiene manganeso)¹¹⁷.

Daño pulmonar agudo. Síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA)

Los RLO (y otros metabolitos tóxicos del oxígeno) son generados en la mayoría de las células como consecuencia de los procesos metabólicos y enzimáticos normales (tabla III); además las células y sus distintos compartimentos son protegidas de los daños oxidativos mediante diversos mecanismos anti-oxidantes. Por un lado existen distintas formas de daño pulmonar que parecen resultar de la generación de metabolitos tóxicos del oxígeno en cantidades que exceden la capacidad antioxidante de las células pulmonares. Y por otro lado, existen diversas manipulaciones que previenen la producción en acumulación de radicales libres o aumentan la capacidad antioxidante del parénquima pulmonar y pueden demostrar su utilidad terapéutica en algunas enfermedades agudas y crónicas de los pulmones.

La infusión intravenosa de peróxidos lipídicos se asocia con una amplia variedad de efectos tóxicos^{118, 119}, que son rápidamente eliminados por la GSH-P¹²⁰; además se ha conseguido estimular la peroxidación lipídica en el tejido pulmonar 1) mediante la exposición al ozono y en mayor medida 2) produciendo simultáneamente una depleción de GSH por medio de ácido metil-fenilazofórmico¹²¹. La anterior remodelación anatomopatológica también se acompaña de cambios importantes en ciertas funciones enzimáticas pulmonares. En la tabla IV podemos ver que la monoamino-oxidasa está involucrada en la producción de RLO. Hay que remontarse a 1925, para encontrar la primera indicación realizada por Starling y Verney, acerca de lo que llamaron función farmacodinámica del pulmón efectuando la detoxificación de una sustancia sérica vasoconstrictora¹⁷⁶, pero hubo que esperar a 1953¹⁶² para realizar la demostración de que ello era debido a la inactivación de la 5-hidroxitriptamina. Los cambios en el medio externo del pulmón (como por ejemplo la exposición *in vivo* a gases anestésicos o a altas concentraciones de O₂, mayores del 95 %, producen alteraciones en los procesos de inactivación de aminas en los pulmones¹²².

Los productos derivados del ácido araquidónico, a través de la vía de la ciclo-oxigenasa, parecen ser importantes mediadores en los cambios de la mecánica pulmonar y en la hipertensión pulmonar mediada por las endotoxinas⁸⁴. Las concentraciones plasmáticas de tromboxano A₂ (TXA₂) y de prostaciclina (PGI₂) están incrementadas después de una hora de la infusión de endotoxina^{123, 124, 125}. A través de la vía de



la lipo-oxigenasa, los derivados de más interés como mediadores son los leucotrienos hoy en día se sabe que la SRS de la anafilaxia son los leucotrienos C_4 , D_4 y E_4 , que por medio de los efectos broncoconstrictores producen hipertensión pulmonar; asimismo el leucotrieno B_4 es un poderoso agente quimiotáctico para los neutrófilos.

Un importante número de cuadros clínicos está asociado a edema pulmonar no cardiogénico y fallo respiratorio, decrito como SDRA. Debido a que la fisiopatología e histología son similares independientemente de la etiología, se ha asumido y pensado que la patogénesis es similar. Una intervención simple podría ser decisiva, sin tener en cuenta el cuadro clínico. Los metabolitos tóxicos del oxígeno parecen estar involucrados en el daño pulmonar desde diversas causas y las sustancias que limpian-eliminan los RLO o previenen su generación son utilizables terapéuticamente.

En los pacientes con SDRA, se acumulan neutrófilos en los pulmones¹²⁶ y además diferentes enzimas derivados de los neutrófilos están presentes en el líquido de LBA de pacientes con SDRA^{127, 128}. La participación de estas células activadas, 1) acumulándose en los pulmones y 2) generando RLO, es fundamental en los daños oxidativos que surge el parénquima pulmonar. Las especies activas del oxígeno pueden contribuir a la edematización pulmonar de un modo indirecto, a través de inactivación de las anti-proteasas, incrementando la susceptibilidad del lecho microvascular a las elastasas producidas por los neutrófilos¹²⁹.

Hay ejemplos de trabajos con pulmones aislados que se vuelven edematosos cuando se perfunden con neutrófilos estimulados, pero esto no tiene lugar si tale neurofilos son de pacientes con enfermedad granulomatosa crónica, cuyas células no generan superóxido al ser estimuladas^{130, 131}. El empleo de sustancias antioxidantes también previene la respuesta¹³². En modelos animales íntegros, al producir la activación intravascular del complemento, aparece un secuestro de neutrófilos en los pulmones que provoca un daño pulmonar transitorio el cual parece también ser mediado por radicales libres derivados de neutrófilos¹³³. Por otro lado se ha observado que el daño pulmonar difuso, presente en la microembolia pulmonar, puede ser atenuado en animales produciendo una deplección de neutrófilos¹³⁴ o empleando antioxidantes¹³⁵.

Uno de los cuadros clínicos más frecuentes en el que se produce SDRA es la sepsis por gramnegativos; fue en un trabajo de Bringham et al en 1983¹³⁶ cuando apreciaron que la infusión de endotoxina bacteriana de gramnegativos en ovejas reproducía gran parte del cuadro fisiopatológico del SDRA. En este modelo experimental, ambos, los neutrófilos y los radicales libres están implicados en el daño tisular. Una relación causal entre tal secuestro pulmonar de neutrófilos y el aumento en la permeabilidad vascular pulmonar se evidencia por la demostración de que la magnitud del incremento en la presión vascular pulmonar resultante de la endotoxemia se ve reducida cuando se produce la deplección neutrofilica¹³⁷.

Los ácidos grasos libres (FFA), pueden producir daños a nivel microvascular a través de varios factores: 1) por interacción con las membranas de las células endoteliales, 2) por estimulación de macrófagos y mastocitos, y 3) por acciones metabólicas después de ser captados por las células.

Tanto el metabolismo celular de los FFA como la estimulación de las células intersticiales, pueden dar como resultado la producción de RLO, entre los que cabe incluir O_2^- , H_2O_2 ¹³⁸, $OH\cdot$ y HOCl (ácido hipocloroso). Los ácidos grasos circulan unidos a la albúmina, en equilibrio con una parte no ligada, con un rango de concentración entre 180 y 1.600 micromoles¹³⁹, pero bajo determinadas circunstancias, como pueden ser: estrés, diabetes incontrolada, ejercicio prolongado, inanición, isquemia o traumatismos, la concentración de los FFA pueden aumentar varias veces. Los FFA, son oxidados por varios caminos, en las mitocondrias, microsomas y peroxisomas^{140, 141}. La degradación oxidativa en los peroxisomas da como resultado peróxido de hidrógeno (H_2O_2)^{140, 142}, y la oxidación mitocondrial da lugar al radical superóxido (O_2^-) y al H_2O_2 ¹⁴³; además, peróxidos lipídicos, $OH\cdot$ y otros RLO se forman por la acción de la lipooxigenasa, de la ciclooxigenasa y por reacciones microsomales con el citocromo P_{450} ^{144, 145, 146}. Por medio de la reacción de Haber y Weiss, los peróxidos lipídicos, en presencia de H_2O_2 e iones metálicos pueden iniciar la formación del radical hidroxilo ($OH\cdot$) e iniciar reacciones de peroxidación lipídica en cadena (cascada de la peroxidación lipídica)^{144, 145, 147, 148, 149}.

Los efectos beneficiosos de los antioxidantes han sido estudiados^{150, 151, 152} en ovejas no anestesiadas, analizando los efectos del limpiador de radicales libres n-acetilcisteína sobre la respuesta a endotoxinas¹⁵³. Estos autores encontraron que la n-acetilcisteína atenuaba las alteraciones en la mecánica pulmonar y la hipertensión pulmonar causadas por endotoxemia. La n-acetilcisteína también disminuía el grado de daño microvascular.

Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

Como ya apreciamos en la tabla I, el tabaco se encuentra de lleno dentro del campo científico de los RLO: es bien conocida la presencia de RLO en el humo del tabaco y en el alquitrán¹⁵⁴, así una simple inhalación de humo de cigarrillo contiene del orden de 10^{14} radicales mientras que el alquitrán de cada inhalación contiene 10^{14} RLO¹⁵⁵. Asimismo los agentes oxidantes del tabaco disminuyen los antioxidantes intracelulares en las células pulmonares^{156, 157} y las cantidades de neutrófilos presentes en los pulmones de los fumadores están aumentadas¹⁵⁸.

El humo de los cigarrillos puede causar enfisema pulmonar, a través de algunos mecanismos que pueden interactuar o no entre sí. *In vitro*, el humo de los cigarrillos produce inactivación del inhibidor de la alfa-1- antiproteasa, a través de un mecanismo oxidativo, permitiendo que el parénquima pulmonar quede en una situación de mayor susceptibilidad para sufrir daños proteolíticos^{159, 160}; además los RLO contenidos



en el humo de los cigarrillos son capaces de degradar las glicoproteínas del moco bronquial, cuya capacidad antioxidante es conocida^{29,161}.

Las proteínas leucocitarias hace ya mucho tiempo que han sido señaladas como uno de los más importantes factores responsables de los daños tisulares^{163, 164, 165}. A nivel experimental se han descrito diversas observaciones que sugieren que las proteasas leucocitarias pueden directa o indirectamente demostrar una interacción con los RLO producidos por los leucocitos activados. El trabajo de Speer et al, en 1984 señalaba que haciendo una pre-incubación de macrófagos con proteasas leucocitarias daba como resultado un incremento en la producción de RLO por parte de los macrófagos cuando eran estimulados con acetato forbol mirístico¹⁶⁶. También en 1984 Fligiel et al han conseguido demostrar un aumento significativo en la proteólisis, al tratar sustratos proteicos (fibrinógeno y tripsina) con peróxido de hidrógeno, seguido de la adición de algunas enzimas (tripsina, elastasa pancreática, plasmina) o de un extrato fresco de neutrófilos¹⁶⁷. Tales datos sugieren, que la producción de RLO y especies activas de oxígeno por los neutrófilos activados pueden aumentar en gran medida la cuantía de la proteólisis como resultado de la secreción de enzimas lisosomales desde los neutrófilos¹⁶⁸.

El enfisema pulmonar es una alteración de la arquitectura pulmonar caracterizada por un aumento anormal y permanente de los espacios aéreos distales al bronquiolo terminal con destrucción de sus paredes, en ausencia de fibrosis significativa¹⁶⁹.

En 1964, gracias a la presentación de un trabajo de Gross et al¹⁷⁰ y otro de Eriksson¹⁷¹, adquiere importancia la llamada teoría proteolítica. Gross et al, comunicaron la producción de lesiones destructivas en alveolos de ratas, similares a las del enfisema humano, induciéndolas por medio de la instilación endotraqueal de papaína¹⁷⁰. Eriksson descubrió la relación directa que existe entre el enfisema pulmonar y la deficiencia homocigótica de alfa-1-antitripsina¹⁷¹.

Los leucocitos polimorfonucleares adquieren especial relevancia en la etiopatogenia del enfisema, como fuente de enzimas proteolíticas, así como el papel, todavía poco conocido, de los macrófagos alveolares, monocitos, células cebadas, plaquetas, fibroblastos y células musculares lisas, en el equilibrio entre proteólisis y anti-proteólisis. A este respecto es bien conocido el hecho de que los fumadores tienen mayor número de leucocitos polimorfonucleares tanto en sangre¹⁷⁴ como en los pulmones^{175, 176} (2-4 veces más), lugar al que son atraídos por el leucotrieno B₄ producido por los macrófagos alveolares¹⁷⁷.

La alfa-1-antitripsina posee una actividad anti-elastasa, lo mismo que la alfa-2-macroglobulina. La alfa-1-antitripsina es una glucoproteína que actúa como sustrato de la elastasa y con la cual forma complejos estables. Con el hábito de fumar, además de aumentar la cuantía de las células productoras de elastasa, se disminuye la concentración de alfa-1-antitripsina, y los RLO y las especies activas del oxígeno (O₂⁻) (H₂O₂) (OH·) por oxidación de la alfa-1-

antitripsina reducen considerablemente su actividad anti-elastasa.

El equilibrio entre los distintos estados pro-oxidantes y las sustancias anti-oxidantes, íntimamente relacionadas con el equilibrio entre la proteólisis y anti-proteólisis, es fundamental para la salud del parénquima pulmonar.

Además de la alfa-1-antitripsina, existe otro inhibidor enzimático, que es el inhibidor bronquial de bajo peso molecular¹⁷⁸, que se produce en las vías aéreas pequeñas, al parecer en las células Clara¹⁷⁹. Cuando la cantidad de alfa-1-antitripsina es menor en un 10 % a las cifras de los sujetos sanos, la actividad anti-elastasa es casi inexistente y como consecuencia de ello se puede detectar la presencia de elastasa libre en el lavado broncoalveolar, cuya determinación es negativa en los sujetos normales¹⁸⁰. La administración intravenosa de alfa-1-antitripsina hace que desaparezca la elastasa libre^{181, 182} y con niveles superiores a 80 mg/dl, en ausencia de tabaquismo, se evita la aparición de enfisema. Se han desarrollado intentos terapéuticos con danazol (estimulando la producción hepática de alfa-1-antitripsina¹⁸³) y con inhibidores de la elastasa (tipo clometilcetonas)¹⁸⁴, pero surgieron problemas de toxicidad hepática.

Inflamación y prostaglandinas

La producción local de factores como la interleucina I y el leucotrieno B₄ por parte de los fagocitos mononucleares, completan el cuadro atrayendo por quimiotactismo a los polimorfonucleares que son productores de especies reactivas del oxígeno, sin olvidar que hay un incremento en las vías de producción de la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa que agrava los signos y los síntomas de la inflamación.

Las primeras células que aumentan en la inflamación son los neutrófilos, seguidas de monocitos macrófagos y después por los linfocitos. Son diversos los factores quimiotácticos que efectúan la atracción de las citadas células al lugar de reparación. Las sustancias activas que intervienen en el proceso de reparación las tenemos en la tabla V. Siguiendo una cinética celular que tal y como vemos en la tabla III incluye diversos grupos celulares pulmonares.

La producción de radical superóxido (O₂⁻), en los fagocitos metabólicamente activados da como resultado daños tisulares que se pueden manifestar de forma dramática con la muerte celular. Experimentos *in vivo*, en los que se induce inflamación, parecen ampliamente relacionados con la producción de O₂⁻ en los fagocitos, desarrollándose daños tisulares y edemas. La administración intravenosa de SOD presenta actividad anti-inflamatoria en estos modelos animales¹⁸⁵. Las tres claves de información, que proporcionan las bases que involucran al radical superóxido en los procesos inflamatorios *in vivo* están en que 1) los leucocitos durante la fagocitosis liberan O₂⁻, 2) las SOD eliminan eficazmente el O₂⁻ y 3) las SOD tienen la actividad farmacológica de los agentes anti-inflamatorios¹⁸⁶.

Tal y como ya apareció en el trabajo de Johnston y Newman¹⁸⁷, la enfermedad granulomatosa crónica se



caracteriza por la presentación recurrente de infecciones de la piel, órganos reticuloendoteliales y pulmones¹⁸⁷. La presencia de linfadenopatías, hepato y esplenomegalia son comunes en estos pacientes. Además procesos de neumonitis, abscesos subcutáneos y furunculosis pueden aparecer tarde o temprano en estos pacientes. La pérdida de capacidad fagocítica de los leucocitos para eliminar los microorganismos da lugar a procesos infecciosos crónicos, con formación de granulomas. El defecto molecular en este síndrome parece ser la ausencia o la falta de oxidasas funcionantes en la membrana plasmática de los leucocitos¹⁸⁸.

Las características fundamentales del lupus eritematoso en la piel son: inflamación, edema, e infiltrado linfocitario denso en el cuerpo papilar, plexo venular superficial y en capas profundas de la dermis. El lupus es un ejemplo de heterogenicidad, pero también de falta de especificidad de los patrones de reacción primaria, ya que histológicamente pueden distinguirse entre las lesiones agudas y las crónicas, pero no entre el lupus eritematoso sistémico y el cutáneo.

Neoplasias y metástasis

El cáncer es una enfermedad que ha resistido numerosos esfuerzos para comprender sus principios y esta falta de conocimiento se ha debido al hecho de que bioquímicamente el proceso tumoral no era conocido en profundidad. Las SOD fueron descubiertas en 1968, pero los primeros estudios sobre las SOD y el cáncer se efectuaron en 1974¹⁸⁸. En 1980 Oberley et al, propusieron la teoría de los daños por radicales libres en el cáncer, basándose en el hecho de que las células tumorales tienen disminuida la Mn-SOD (superóxido dismutasa que contiene manganeso), al tiempo que mantiene una producción normal de radical superóxido (O_2^-)¹⁹⁰, por tanto el desequilibrio entre pro-oxidación (O_2^-) y antioxidación (Mn-SOD) se produce, permitiendo cantidades remanentes de O_2^- que darán lugar oxidaciones incontroladas que dañan estructuras subcelulares claves para la vida. La inducción del RNAm, productor de Mn-SOD, se puede apreciar después de tratamiento con beta-TNF, IL-1 alfa, IL-1 beta¹⁹¹.

Los peróxidos pueden considerarse como agentes mutágenos y los enzimas que interactúan con ellos pueden disminuir la incidencia de los procesos mutagénicos. Esto es particularmente cierto para la glutatión peroxidasa (GSH-P), pues como ya comunicó en 1969 Christophersen, la GSH-P reacciona con los hidroperóxidos de los ácidos nucleicos (eliminándolos) así como a sus precursores¹⁹². El hidroperóxido de timidina, que también es eliminado por la GSH-P, se descubrió que era un potente agente mutágeno¹⁹³. El interés de la cualidad de la GSH-P para eliminar mutágenos se refuerza por las numerosas observaciones que relacionan la administración de suplementos subtóxicos de selenio con una gran disminución de la incidencia de tumores en muchos modelos químicos de carcinogénesis, así como en el desarrollo de tumores de mama^{194, 195, 196}. La relación inversa entre las cantidades de selenio de la dieta y la mortalidad por

cáncer son estadísticamente significativas para varios procesos neoplásicos entre los que tenemos los que afectan a colon, recto, próstata, mama y leucocitos¹⁹⁷.

Cuando las membranas celulares están sometidas a los efectos de la peroxidación lipídica hay tres tipos de agentes reactivos que producen daños intracelulares¹⁹⁸: 1) los RLO, teniendo en cuenta que los RLO formados en la membrana celular difícilmente alcanzan el núcleo celular debido a la existencia de poderosos y eficaces mecanismos anti-oxidantes, además si los daños de la membrana celular son grandes se produce la muerte celular sin dejar posibilidad de que el núcleo sea alterado; 2) los hidroperóxidos de ácidos grasos que por sus características hidrofóbicas pueden pasar al interior celular; 3) los productos derivados de la membrana, representados por los compuestos carbonilos, productos finales de la peroxidación lipídica, entre los que se encuentra el malonaldehído.

Además tenemos las radiaciones ionizantes, el shock térmico y las sustancias que oxidan el glutatión.

El malonaldehído produce mutagénesis a través de un patrón de ruptura del DNA seguido de un error en el sistema de reparación^{199, 202}

DNA + Radical → (DNA radical)

Cancerígeno + radical → (Cancerígeno-radical)

DNA radical + cancerígeno-radical → DNA-cancerígeno

Shamberger et al, en 1974, observaron que el malonaldehído podía iniciar la carcinogénesis en la piel de los ratones²⁰³. Más tarde Troll et al, comunicaron el aumento de la incidencia de cáncer de piel en ratones, incrementando la proporción de ácidos grasos poliinsaturados desde el 2 al 15 % (y no conviene olvidar que la dieta occidental contiene 16 %) ²⁰⁴.

El selenio, por una parte inhibe la inducción de tumores de colon, hígado, mama y piel²⁰⁵, y por otra, las bajas concentraciones de selenio parecen ser un factor de riesgo para contraer cáncer en la especie humana²⁰⁶.

Está comprobado el carácter ambogénico del selenio y la vitamina E²⁰⁷, es decir que ambos nutrientes son necesarios para corregir una deficiencia de cualquiera de los dos. Además es un hecho conocido que, un antioxidante puede tener efectos protectores sobre otro, por ejemplo la vitamina C conserva las reservas de vitamina E y ésta portega a los carotenoides (vitamina A)²⁰⁸ y es preciso considerar la necesidad de separar en el tiempo la ingesta oral de vitamina A y E, dado que la primera interfiere la absorción intestinal de la segunda²⁰⁹.

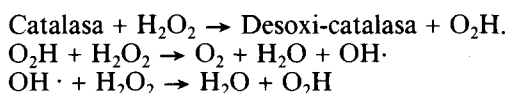
El selenio forma parte del grupo prostético de la glutatión peroxidasa²¹⁰, que es una seleno-enzima antioxidante "neutralizadora" *scavenger* de RLO. Las reacciones de los RLO con la selenourea, la selenotionina y la selenocisteína han sido estudiadas²¹¹. En principio los compuestos de selenio pueden intervenir en reacciones de reparación, pero las concentraciones normales de las células pueden ser insuficientes en promover tales reacciones. Parece ser que el grupo que contiene selenio es oxidado reversiblemente durante la catalisis y aparece una cinética de vaiven. La



glutathion peroxidasa es altamente específica para el glutathion, pero reacciona también con muchos hidroperóxidos. El sistema de glutathion peroxidasa puede ser colapsado bruscamente cuando la formación de hidroperóxidos sobrepasa el índice de regeneración de la glutathion peroxidasa. Por ello (ante el exceso de hidroperóxidos), pueden ser explicadas alteraciones de la glutathion peroxidasa y de la vía metabólica de la pentosa-fosfato.

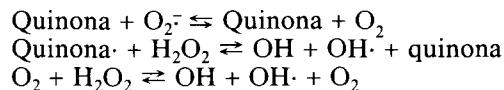
Bajo el punto de vista de su actuación sobre los hidroperóxidos, la glutathion peroxidasa puede estar involucrada en variados sucesos metabólicos como son: remoción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) de compartimentos bajos en catalasa. Mutagénesis inducida por hidroperóxidos¹⁷². Protección de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares^{53,127}. Biosíntesis de prostaglandinas^{214,215}. Regulación de la síntesis de prostaciclina²¹⁶. Mills⁴⁸, descubrió la glutathion H_2O_2 oxido-reductasa, que es capaz de reducir varios hidroperóxidos a alcoholes. Entre los hidroperóxidos que acepta como sustratos para su acción están: el peróxido de hidrógeno (H_2O_2 , demostrando mayor capacidad de eliminación que la catalasa, en concentraciones bajas), el etil hidroperóxido, el T-butil-hidroperóxido, el cumeno-hidroperóxido, el hidroperóxido de tiamina, los hidroperóxidos de ácidos grasos poli-insaturados (PUFA) y correspondientes ésteres, los hidroperóxidos de ácidos nucleicos, y los hidroperóxidos de la prostaglandina G_2 .

La catalasa, junto con la glutathion peroxidasa y las SOD, es la enzima encargada de completar el mecanismo de defensa contra los daños oxidativos en las células. Ono²¹⁸, midió la actividad de la catalasa en muchos hepatomas y en todos ellos encontró que estaba disminuida y que además la actividad de la catalasa estaba inversamente correlacionada con el crecimiento tumoral (más crecimiento tumoral menos actividad enzimática de la catalasa). Wickramasinghe²¹⁹, observó que la actividad de la catalasa era 4 veces superior en los tejidos normales que en los tumorales. Estos datos han sido confirmados por los estudios posteriores de Bozzi²²⁰ y Cederbaum²²¹. De todos estos estudios se puede concluir la relación de equilibrio entre las SOD y las enzimas que eliminan-destruyen el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (glutathion peroxidasa y catalasa, pero no se sabe cual de estas enzimas es más importante en el fenotipo canceroso²²²). La catalasa se localiza en los peroxisomas y en los microcuerpos subcelulares, pero no en la matriz mitocondrial²²³. Haber y Willstratter, en 1931²²⁴, sostenían la opinión de que la cadena de reacciones producidas por la catalasa en la oxidación enzimática del alcohol y el acetaldehído, daba lugar a un radical «iniciador», según las reacciones:



La formación de radicales hidroxilo ($OH \cdot$) tiene lugar desde una reacción que comienza en la glucosa

oxidasa (flavoproteína) y se produce inicialmente H_2O_2 y en la que finalmente interviene una semiquinona reaccionando con el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), según²²⁵



Por todo ello, el desarrollo tumoral parece estar muy relacionado con el mantenimiento o no del equilibrio estacionario entre pro-oxidación y anti-oxidación. Muchos modelos *in vivo* de metástasis, implican a las especies reactivas del oxígeno en el daño celular endotelial y en la subsiguiente promoción de metástasis. Tales modelos incluyen: 1) La activación y secuestro de neutrófilos en los capilares pulmonares²²⁶. 2) La exposición de los animales a agentes como la bleomicina²²⁷, altas dosis de oxígeno²²⁸ y a las radiaciones ionizantes^{229,230}.

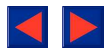
Recientemente Leroyer et al, demostraron la producción de RLO (H_2O_2 , O_2^- y $OH \cdot$) por las células del carcinosarcoma de Walker (W 256¹⁷³), lo cual hace que aumente el interés de los RLO y los procesos tumorales. Para confirmar esta producción de especies activas del oxígeno, Shaughnessy et al, en 1989, han comunicado los efectos de la butionin-sulfoximina (BSO), que es un inhibidor de la síntesis de glutathion, de la catalasa y la SOD en el modelo del carcinosarcoma de Walker 256, por medio de la detección de los niveles de 3H-2-deoxiglucosa¹⁸⁹. Por tanto es muy probable que las células cancerosas pueden ver facilitado su paso a través de las paredes vasculares por medio la generación de especies activas de oxígeno, cuya citotoxicidad está demostrada.

Epílogo

A la luz de los datos presentados, la hipótesis de los daños pulmonares oxidativos (pérdida de equilibrio entre pro-oxidación y antioxidación) toma una posición de vanguardia en el enfoque fisiopatológico y terapéutico de numerosas enfermedades; se comprueba que el pulmón es un órgano diana del estrés oxidativo y además los autores consideran que bajo este nuevo prisma conceptual es posible establecer argumentos preventivos en ámbitos tan frecuentes a nivel de neumología como son la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el SDRA, el SDRRN y las neoplasias pulmonares.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ward PA. Host-defense mechanism for lung injuru. J Allergy Clin Immunol 1986; 78:373-378.
2. Bringham KL. Role of free radicals in lung injury. Chest 1986; 89:859-863.
3. Repine JE. Neutrophils, oxygen radicals and the adult respiratory distress syndrome. En: Said. SI ed. The pulmonary circulation and acute lung injury. Mount Kisko. New York. Futura Publishing Co Inc 1985; 249-281.
4. Crisham MB, McCord JM. Chemistry and cytotoxicity of reac-



- tive oxigen metabolites. En: Physiology of oxigen radicals. Taylor AE, Matalon S, Ward PA (eds) Clinical physiology series. American Physiological Society. Bethesda. Maryland. 1986; 1-18.
5. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. II. Involvement in human disease. Mayo Clin Proc 1988; 63:390-408.
 6. Pryor WA. Free radicals biology: xenobiotics, cancer and aging. Ann NY Acad Sci 1982; 393:1-22.
 7. Walthers FJ, Gidding CE, Kuipers IM, et al. Prevention of oxygen toxicity with superoxide dismutase and catalase in premature lambs. J Free Radic Biol Med 1986; 2:289-293.
 8. Evans HE, Rosenfeld W, Jhaveri R., Conception L, Zabaleta L. Oxidant-mediated lung disease in newborn infants. J Free Radic Biol Med 1986; 2:369-372.
 9. Mustafa MG, Tierney DF. Biochemical and metabolic changes in the lung with oxygen, ozone and nitrogen dioxide toxicity. Am Rev Respir Dis 1978; 118:1.061-1.090.
 10. Dubaybo B, Durr. R, Thet LA. Paraquat induced lung injury: use of a unilateral injury model to produce different degrees of injury and fibrosis (abstrct). Am Rev Respir Dis: 1985; 131(suppl) A 182.
 11. Baldwing SR, Grum CM, Boxer LA, Simon RH, Ketai LH, Deval LJ. Oxidant activity in expired breath of patients with adult respiratory syndrome. Lancet 1986; 1:11-14.
 12. Riely C, Cohen G, Lieberman M. Etane evolution: a new index of lipid peroxidation. Science (Wash. DC) 1974; 183:208-210.
 13. Litov RE, Irving DH, Downey JE, Tappel AL. Lipid peroxidation: a mechanism involved in acute ethanol toxicity as demonstrated by *in vivo* pentane production in the rat. Lipids 1978; 13:305-307.
 14. Tabuenca JM. Toxic-allergic syndrome caused by ingestion of repressed oil denatured with aniline. Lancet 1981; 2:567-568.
 15. Wispe JR, Bell EJ, Roberts. Assesment of lipid peroxidation in newborn infants and rabbits by measurements of expired ethane and pentane: influence of parenteral lipid infusion. Pediatr Res 1985; 19:374-379.
 16. Mossman BT, Marsh JP, Shatos MA. Alteration of superoxide dismutase activity in tracheal epithelial cells by asbestos and inhibitors of cytotoxicity by antioxidants. Lab Invest 1986; 54:204-212.
 17. Mossman BT. Alteration of superoxide dismutase activity in tracheal epithelial cells by asbestos and inhibition of cytotoxicity by antioxidants. Lab Invest 1986; 54:204-212.
 18. Marsh JP, Petruska J, Mossman BT. Elevation of antioxidant enzymes in an inhalation model of asbestosis. Am Rev Respir Dis 1988; 137(abstr):350.
 19. Romero Alvira D, Calvo Rebollar M, Villalba Martín MP et al. Radicales libres y especies activadas del oxígeno. Química, biología e implicaciones en patología médica. (Primera de tres partes) An Med Intern 1987; 4:672-679.
 20. Adamson IVR, Bowden DH, Wyatt JP. Oxygen poisoning in mice. Ultrastructural and surfactant studies during exposure and recovery. Arch Pathol 1970; 90:463-472.
 21. Mossman BT, Marsh JP, Shatos MA, Doherty J, Gilbert R, Hill S. Implications of active oxygen species as second messengers of asbestos toxicity. Drug Chem Toxicol 1987; 10:157-180.
 22. Begleiter A. Studies on mechanism of action of quinone anti-tumor agents. Biochem Pharmacol 1985; 34:2.629-2.636.
 23. Ames JR, Ryan MD, Kovacic P. Mechanism of antibacterial action: electron transfer and oxy radicals. J Free Radic Biol Med 1986; 2:377-391.
 24. Ames JR, Hollstein U, Gagneux AR, Ryan MD, Kovacic P. An intergrated concept of amebicial action: electron transfer and oxy radicals. J Free Radic Biol Med 1987; 3:85-96.
 25. Cohen MV. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury: Is this time for clinical trials?. Ann Intern Med 1989; 111:918-931.
 26. Cerutti PA. Prooxidant states and tumor promotion. Science 1985; 227:375-381.
 27. Vallyathan V, Shi X, Dalai NS, Irr W, Castranova V. Silicon-oxygen radicals and their role in acute silicosis. Am Rev Respir Dis 1988; 137(abstr):404.
 28. Church DF, Pryor WA. Free radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. Environ Health Perspect 1985; 64:111-126.
 29. Nakayama T, Kodama M, Nagata C. Generation of hydrogen peroxide and superoxide anion radical from cigarette smoke. Gann 1984; 75:95-98.
 30. Petruska J, Mossman BT. Detection of malonaldehyde(M-DA) in bronchoalveolar lavage(BAL) of rats exposed to crocidolite asbestos. Am Rev Respir Dis 1989; 139(part 2):A 212.
 31. Topping DC, Nettesheim P, Martin DH: Toxic and tumorigenic effects of asbestos on tracheal mucosa. J Environ Pathol Toxicol 1980; 3:261-275.
 32. McCord JM. The biology and pathology of oxygen radicals. Ann Intern Med; 1978; 89:122-127.
 33. Turrens JF, Freeman BA, Crapo JD. Hyperoxia increases H₂O₂ release by lung mitochondria and microsomes. Arch Biochem Biophys 1982; 217:401-410.
 34. Turrens JF, Freeman BA, Levitt JG, Crapo JD. The effect of hyperoxia on superoxide production by lung sumitochondrial particles. Arch Biochem Biophys 1982; 217:401-410.
 35. McCord JM, Day ED. Superoxide-dependent production of hydroxyl radical catalyzed by iron-EDTA complex. FEBS 1948; 86:139-142.
 36. Tappel AL. Lipid peroxidation damage to cell components. Federation Proc 1973; 32:1.870-1.874.
 37. Ward PA, Till GO, Hatherhill J, Annesley TM, Kunkel RG. Systemic complement activation, lung injury and products of lipid peroxidation. J Clin Invest 1985; 76:517-527.
 38. Weiss SJ, Klein R, Silvka A, Wei M. Chlorination of taurine by human neutrophils. Evidence for hypochlorous acid generation. J Clin Invest 1982; 70:598-607.
 39. Deneke SM, Gershoff SN, Fanburg BL. Changes in O₂ toxicity and glutathione peroxidase levels in selenium deficient rats. Chest 1983; 83(suppl):39S-40S.
 40. Baird BR, Cheronis JC, Sandhaus RA, White CW, Repine JE. Pretreatment with a non-oxidizable (Eglin) but not an oxidizable (alpha-1-antitrypsin) elastase inhibitor decreases acute edematous injury in isolated rats lungs perfused with hydrogen peroxide (H₂O₂) and human neutrophil elastase (NE)(Abstract). Clin Res 1986; 34:77.
 41. Tate RM, Morris HG, Shroeder WR, Repine JE. Oxygen metabolites stimulate thromboxane production and vasoconstriction in isolated saline-perfused rabbit lungs. J Clin Invest 1984; 74:608-613.
 42. Tate RM, Vanbenthuyzen KM, Shasby DM, McMurtry IF, Repine JE. Oxygen-radical-mediated permeability edema and vasoconstriction in isolated perfused rabbit lungs. Am Rev Respir Dis 1982; 126:802-806.
 43. Fulmer JD, Snider GL, Albert RK et al. ACCP-NHLBI national conference on oxygen therapy. Chest 1984; 6:234-247.
 44. Cross CE, Hasegawa G. Enhanced lung toxicity of O₂ in selenium deficient rats. Res Commun Chem Pathol Pharmacol 1977; 16:695-706.
 45. Mills GC. Hemoglobin catabolism, I, Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. J Biol Chem 1957; 229:189-197.
 46. Flohé L, Günzler WA, Schock HH. Glutathione peroxidase: a seleno-enzyme. FEBS (Fwd Eur Biochem Soc) 1973; 32:132-134.
 47. Little C, O'Brien PJ. An intracellular GSH-peroxidase with a lipid peroxide substrate. Biochem Biophys Res Commun 1968; 31:145-150.
 48. Flohé L, Zimmermann R. The role of GSH peroxidase in protecting the membrane of rat liver mitochondria. Biochem Biophys Acta 1970; 223:210-213.
 49. Flohé L, Günler WA, Ladenstein R. Glutathione peroxidase. En Glutathione. Arias IM, and Jakoby WB, (eds) Raven Press. Nueva York 1976; 115-138.
 50. Omaye ST, Taylor SL, Forstrom JW, Tappel AL. Lipid peroxidation and reactions of glutathione peroxidase. Fed Proc 1975; 34(abstr.): 538.
 51. Christophersen BO. Formation of monohydroxypolyenic fatty acids from lipid peroxides by a glutathione peroxidase. Biochem Biophys Acta 1968; 164:35-46.
 52. Thomas HF, Herriot RM, Hahn BS, Wang SY. Thymine hydroperoxide as a mediator in ionising radiation mutagenesis. Nature (Lond) 1976; 259:341-343.
 53. Scharauzer GN. Selenium: anticarcinogenic action of an essential trace element, En Proceedings of the symposium on selenium-tellurium in the environment. (Industrial Health Foundation, Inc., ed.) Pittsburgh 1976; 293-299.
 54. Griffin AC, Jacobs MM. Effects of selenium on azo dye hepatocarcinogenesis. Cancer 1977; 3:177-181.



58. Jacobs MM, Jansson B, Griffin AC. Inhibitory effect of selenium on 1,2 dimethylhydrazine and methylazoxymethanol acetate induction of colon tumors. *Cancer* 1977; 2:133-137.
59. Shamberger RJ. Selenium in health and disease. En: Proceedings of the symposium on selenium-tellurium in the environment. (Industrial Health Foundation, Inc., ed.). Pittsburgh 1976; 253-267.
60. Schrauzer GN, White DA, Schneider CJ. Cancer mortality correlation studies-III. Statistical associations with dietary selenium intakes. *Bionorg Chem* 1977; 7:23-24.
61. Scharauzer GN, Ismael D. Effects of selenium and of arsenic on the genesis of spontaneous mammary tumors in inbred C₃J mice. *Ann Clin Lab Sci* 1974; 4:441-447.
62. Flohé L. Glutathione peroxidase: fact and fiction. En *Oxygen free radicals and tissue damage*. Ciba Foundation Symposium 65(new series). Excerpta Medica. Amsterdam. Oxford. Nueva York 1979; 95-122.
63. Hass MA, Iqbal J, Clerich LB, Frank L, Masaro D. Rat Lung Cu, Zn superoxide dismutase latin and sequence of a full length cDNA and studies of enzyme induction. *J Clin Invest* 1989; 83:1.241-1.246.
64. Simon LM, Suttorp N. Intracellular protection by N-acetylcysteine against oxidant mediated lung cell damage (abstract). *Am Rev Respir Dis* 1984; 129:A 324.
65. Kanner J, German JB, Kinsella JE. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *CRC. Critical Reviews in Foods Science and Nutrition* 1987; 25:317-364.
66. Villalba Martín MP. Empleo de un protocolo antioxidante no enzimático en pacientes con insuficiencia coronaria. Parámetros analíticos y electrocardiográficos. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza. Mayo 1.988.
67. Halliwell V. Production of H₂O₂ and hydroxyl radicals by phagocytic cells: a cause of chronic inflammatory disease?. *Cell Biol Int Res* 1982; 6:529-549.
68. Romero Alvira D, Bueno Gómez J. Radicales libres del oxígeno y antioxidantes en Medicina. *Rev Clín Esp* 1989; 184:345-356.
69. Romero Alvira D, Villalba Martín MP, Gómez Bellver MJ et al. Interés de los fármacos antioxidantes en la terapéutica actual. Radicales libres del oxígeno, antioxidantes y patología. *Rev Soc Esp Farm Hosp* 1989; 13:317-327.
70. Korycka-Dahl M, Richardson T. Initiation of oxidative changes in foods. Symposium: oxidative changes in milk. *J Dairy Sci* 1981; 63:1.181-1.208.
71. Walling Ch. Fenton's reagent revisited. *Acc Chem Res* 1975; 8:125-131.
72. Motohashi N, Mori I. Superoxide dependent formation of hydroxyl radical catalyzed by transferrin. *FEBS* 1983; 157:197-199.
73. Ambruso DR, Johnston RB Jr. Lactoferrin enhances hydroxyl radical production by human neutrophils particulate fractions, and an enzymatic generating system. *J Clin Invest* 1981; 67:352-360.
74. Sadzadeh SM, Graf E, Panter PE et al. Hemoglobin. A biological Fenton Reagent. *J Biol Chem* 1984; 259:1.435-1.456.
75. Thomas CE, Morehouse LA, Aust SD. Ferritin and superoxide-dependent lipid peroxidation. *J Biol Chem* 1985; 260:3.275-3.280.
76. Aruoma OI, Halliwell B. Superoxide-dependent and ascorbate-dependent formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Are lactoferrin and transferrin promoters of hydroxyl-radical generation?. *Biochem J* 1987; 241:273-278.
77. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science* 1978; 201:875-880.
78. Fishman AP. Hypoxia on the pulmonary circulation. How and where its acts. *Cir Res* 1976; 38:331-341.
79. Rabinovitch M, Gamble W, Nadas AS, Miettinen O, Reid L: Rat pulmonary circulation after chronic hypoxia: hemodynamic and structural features. *Am J Physiol* 1979; 236:H818-H827.
80. Reid L. The pulmonary circulation: remodeling in growth and disease. The 1.978 J. Burns Amberson Lecture. *Am Rev Respir Dis* 1979; 119:531-546.
81. Meyrich B, Reid L. The effect of continued hypoxia on rat pulmonary arterial circulation ultrastructural study. *Lab Invest* 1978; 38:188-200.
82. Meyrich B, Reid L. Hypoxia and incorporation of 3H-thymidine by cells of the rat pulmonary arteries and alveolar wall. *Am J Pathol* 1979; 96:51-69.
83. Meyrich B, Reid L. Endothelial and subintimal changes in rat hilar pulmonary artery during recovery from hypoxia. *Lab Invest* 1980; 42:603-615.
84. Demling RH, Lalonde C, Jin LJ, Ryan P, Fox R. Endotoxemia causes increased lung tissue lipid peroxidation in unanesthetized sheep. *J Appl Physiol* 1986; 60:2.094-2.100.
85. Thet LA, Parra SC, Shelburne JD. Repair of oxygen-induced lung injury in adult rats. The role of ornithine decarboxylase and polyamines. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129:174-181.
86. Ursini F, Maiorino M, Gregolin C. The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochem Biophys Acta* 1985; 839:62-70.
87. Van Kuijk FJGM, Sevanian A, Handelman GJ, Dratz EA. A new role for phospholipase A2: protection of membranes from lipid peroxidation damage. *Trends Biochem Sci* 1987; 12:31-34.
88. Lown JW, Sim S. The mechanism of the bleomycin-induced cleavage of DNA. *Biochem Biophys Res Comm* 1977; 77:1.150-1.157.
89. Thet LA, Wrobel DJ, Crapo JD, Shelburne JD. Morphologic aspects of the protection by endotoxin against acute and chronic oxygen induced injury in adults rats. *Lab Invest* 1983; 4:448-457.
90. Välimäki M, Juva K, Rantanen J, Ekfors T, Niinikoski J. Collagen metabolism in rat lungs during chronic intermittent exposure to oxygen. *Aviat Space Environ Med* 1975; 46:684-690.
91. Riley DJ, Berg RA, Edelman NH, Prockup DJ. Prevention of collagen deposition following pulmonary oxygen toxicity in the rat by cis-4-hydroxy-L-proline. *J Clin Invest* 1980; 65:643-651.
92. Thet LA. Repair of oxygen-induced lung injury. En *Physiology of oxygen radicals*. Taylor AE, Matalon S, Ward PA(eds). Clinical Physiology Series. American Physiological Society 1986; 87-108.
93. Dubaybo B, Durr R, Thet LA. Paraquat induced lung injury: use of a unilateral injury model to produce different degrees of injury and fibrosis (abstract). *Am Rev Respir Dis* 1985; 131(suppl):A 182.
94. Dubaybo B, Durr R, Thet LA. Development of lung fibrosis after chronic hyperoxic injury: correlation of morphometry with changes in extracellular matrix protein (abstract). *Am Rev Respir Dis* 1985; 131(suppl): A 364.
95. Toole BP. Glycosaminoglycans in morphogenesis. En: *Cell biology of extracellular matrix*. Hay ED ed. Nueva York. Plenum Publishing 1981; 259-294.
96. Gutteridge JM, Fu X. Enhancement of bleomycin-iron free radical damage to DNA by antioxidant and their inhibition of lipid peroxidation. *FEBS* 1981; 123:71-79.
97. Davis WB, Crystal RG. Chronic interstitial lung disease. En *Current pulmonology*. Simmons DH, ed. Wiley and Sons. Nueva York 1984; 47.
98. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. II. Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc* 1988; 63:390-408.
99. Romero Alvira D, Villalba Martín P, Mur Villacampa et al. Importancia de los antioxidantes en la alimentación humana. *Med Clin (Barc)* 1990; 94:69-75.
100. Wispe JR, Bell EJ, Robert J. Assessment of lipid peroxidation in newborn infants and rabbits by measurements of expired ethane and pentane: influence of parenteral lipid infusion. *Pediatr Res* 1985; 19:374-379.
101. Litov RE, Irving DH, Downey JE, Tappel AL. Lipid peroxidation: a mechanism involved in acute ethanol toxicity as demonstrated by *in vivo* pentane production in the rat. *Lipids* 1978; 13:305-307.
102. Hochstein P, Jain SK. Association of lipid peroxidation and polymerization of membrane proteins with erythrocyte aging. *Fed Proc* 1981; 40:182-188.
103. Steinmann BU, Martín GR, Braum BI, Crystal RG. Synthesis and degradation of collagen by skin fibroblast from controls and patients with osteogenesis imperfecta. *FEBS* 1979; 101:269-272.
104. Baum BJ, Moss J, Bruel SD, Crystal RG. Association in normal fibroblast of elevated levels of adenosine 3'-5' monophosphate with a selective decrease in collagen production. *J Biol Chem* 1978; 253:3.391-3.394.
105. Baum BJ, Moss J, Bruel SD, Crystal RG. Effect of cyclic AMP on the intracellular degradation of newly synthesized collagen. *J Biol Chem* 1980; 255:2.843-2.847.
106. Ruwart MJ, Rush BD, Snyder KF et al. 16 dimethyl prostaglandin E2 delays collagen formation in nutritional injury in rat liver. *Hepatology* 1988; 861-864.
107. Flaherty M, Chojkier M. Selective inhibition of collagen



- synthesis by Ca⁺⁺ ionophore A23187 in cultured human fibroblasts. *J Biol Chem* 1986; 261:12.060-12.065.
108. Harper E. Collagenases. *Ann Rev Biochem* 1980; 49:1.063-1.078.
109. Harris ED, Krane SM. Collagenases. *N Engl J Med* 1974; 291:557-563.
110. Nitowsky HM, Gordon HH. A role of tocopherol in human nutrition. *J Pediatr* 1959; 55:315-318.
111. Angel P, Baumann I, Stein B et al. 12-0-tetradecanoyl-phorbol 13 acetate induction of the human collagenase gene is mediated by an inducible enhancer element located in the 5' flanking region. *Mol Cell Biol* 1987; 7:2.256-2.266.
112. Gordon S, Werb Z. Secretion of macrophage neutral proteinase is enhanced by colchicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73:872-876.
113. Harris ED, Reynolds JJ, Werb Z. Cytochalasin B increases collagenase production by cells "in vitro". *Nature* 1975; 257:243-244.
114. Goultshin J, Shoshan S. Inhibition of collagen breakdown by diphenylhydantoin. *Biochem Biophys Acta* 1980; 631:188-191.
115. Brinckerhoff CE, McMillan RM, Dayer JM, Harris ED Jr. Inhibition of retinoic acid of collagenase production in rheumatoid synovial cells. *N Engl J Med* 1980; 303:432-436.
116. Koob TJ, Leffrey JF, Eisen AZ, Bauer EA. Hormonal interactions in mammalian collagenase regulation. Comparative studies in human skin and rat uterus. *Biochem Biophys Acta* 1980; 629:13-23.
117. Masuda A, Longo DL, Kobayashi Y, Appella E, Oppenheim JJ, Matsushima K. Induction of mitochondrial manganese superoxide dismutase by interleukine 1. *FASEB* 1988; 2:3.087-3.091.
118. Olcott HS, Dolev A. Toxicity of fatty acid ester hydroperoxides. *Proc Soc Exp Biol Med* 1963; 114:820-822.
119. Cortesi R, Privett OS. Toxicity of fatty ozonides and peroxides. *Lipids* 1973; 7:715-721.
120. Christophersen BO. Formation of monohydroxy-polyenic fatty acids from lipid peroxides by a glutathione peroxidase. *Biochem Biophys Acta* 1968; 164:35-46.
121. Kosower NS, Vanderhoff GA, Kosower EM, Huang. Decreased glutathione content of human erythrocytes produced by methyl phenylazofornate. *Biochem Biophys Res Commun* 1965; 20:469-474.
122. Youdim MBH, Bakhle YS, Ben-Harari RR. Inactivation of monoamines by the lung. En *Metabolic activities of the lung*. Ciba Foundation symposium 78 (new series). Excerpta Medica. Amsterdam, Oxford, New York 1980; 105-128.
123. Brigham KL. Metabolites of arachidonic acid in experimental lung vascular injury. *Federation Proc* 1985; 44:43-45.
124. Brigham KL, Duke S. Prostaglandins and lung disease: adult respiratory distress syndrome. *Sem Resp Med* 1985; 7:11-16.
125. Parker JC, Martin D, Rutili G, McCord J, Taylor AE. Prevention of free radical-mediated vascular permeability increase in lung using superoxide dismutase. *Chest* 1983; 83:525-528.
126. Tate RM, Repine JE. Neutrophils and the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128:552-557.
127. Lee CT, Fein AM, Lippman M, Holtzman H, Kimbel P, Weinbaum G. Elastolytic activity in pulmonary lavage fluid from patients with adult respiratory distress syndrome. *N Eng J Med* 1981; 304:192-96.
128. Brigham KL, Meyrick B. Interactions of granulocytes with the lungs. *Circ Res* 1984; 54:623-635.
129. Baird BR, Cheronis JC, Sandhaus RA, Berger EM, White CW, Repine JE. Oxygen metabolites and neutrophil elatase suggestively cause edematous injury in isolated rat lungs. *J Appl Physiol* 1986; 61: 2.224-2.229.
130. Shasby DM, Shasby SS, Peach MJ. Polymorphonuclear leukocyte: arachidonate edema. *J Appl Physiol* 1985; 59:47-55.
131. Shasby DM, Vanbenthuyzen KM, Tate RM, Shasby SS, McMurthy I, Repine JE. Granulocytes mediate acute edematous lung injury in rabbits and in isolated rabbits lungs perfused with phorbol myristate acetate: role of oxygen radicals. *Am Rev Respir Dis*. 1982; 125:443-447.
132. Repine J. Neutrophils, oxygen radicals and the adult respiratory distress syndrome. En *The pulmonary circulation and acute lung injury*. Said. S, ed. Mount Kisco, New York: Futura Publishing Co 1985: 249-81.
133. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 1982; 107:395-418.
134. Flick M, Perel A, Staub NC. Leukocytes are required for increased lung microvascular permeability after microembolization in sheep. *Circ Res* 1981; 48:344-51.
135. Flick M, Hoeffel JM, Staub NC. Superoxide dismutase with heparin prevents increased lung vascular permeability during air emboli in sheep. *J Appl Physiol* 1983; 55:1.284-91.
136. Brigham KL, Begley CJ, Bernard GR, Loyd JE, Lucht WD, Meyrick BO, et al. Septicemia and lung injury. *Clin Lab Med* 1983; 3:719-44.
137. Heflin AC, Brigham KL. Prevention by granulocyte depletion of increased vascular permeability of sheep lung following endotoxemia. *J Clin Invest* 1981; 68:1.253-60.
138. Baldwin SR, Grum CM, Boxer LA, Simon RH, Ketaj LH, Deval LJ. Oxidant activity in expired breath of patients with adult respiratory syndrome. *Lancet* 1986; 1:11-14.
139. Hennig B, Shasby DM, Falton AB, Spector AA. Exposure to free fatty acid increases the transfer of albumin across cultured endothelial monolayers. *Arteriosclerosis* 1984; 4:489-497.
140. Leighton F, Persico R, Necochea C. Peroxisomal fatty acid oxidation is selectively inhibited by phenothiazines in isolated hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 120:505-511.
141. Spector A. Metabolism of free fatty acids. *Prog Biochem Pharmacol* 1971; 6:130-176.
142. Chane B, Sies H, Boveries A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59:527-605.
143. Freeman BA, Crapo JD. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47:412-426.
144. Borg DC, Schaich KM. Cytotoxicity from coupled redox cycling of autoxidizing xenobiotics and metals. *Isr J Chem* 1984; 24:38-53.
145. Cheah AM. Effect of long chain unsaturated fatty acids on calcium transport of sarcoplasmic reticulum. *Biochem Biophys Acta* 1981; 648:113-119.
146. Morisaki N, Lindsey JA, Stitts JM, Zhang H, Cornwell DG. Fatty acid metabolism and cell proliferation. V Evaluation of pathways for the generation of lipid peroxides. *Lipids* 1984; 19:381-394.
147. Taylor AE, Martin DJ, Townsley MI. Oxygen radicals and pulmonary edema. En *The pulmonary circulation and acute lung injury*. S.I. Said, ed Mount Kisco, New York. Futura 1985; 307-320.
148. Weiss SJ, LoBuglio AF. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest* 1982; 47:5-18.
149. Takeda K, Shimada Y, Amano M, Sakai T, Okada T, Yoshida I. Plasma lipids peroxides and alpha-tocopherol in critically ill patients. *Crit Care Med* 1984; 12:957-959.
150. Brigham KL, Meyrick B, Berry LC jr, Repine JE. Antioxidants protect cultured bovine lung endothelial cells from injury by endotoxin. *J Appl Physiol* 1987; 63:840-850.
151. Olson NC, Anderson DL, Grizzle MK. Dimethylthiourea attenuates endotoxin-induced acute respiratory failure in pigs. *J Appl Physiol* 1987; 63:2.426-2.432.
152. Milligan SA, Hoeffel JM, Goldstein IM, Flick MR. Effect of catalase on endotoxin-induced acute lung injury in unanesthetized sheep. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137:420-428.
153. Barnard G, Lucht W, Niedermeyer M, Snapper J, Ogletree M, Brigham KL. Effect of N-acetylcysteine on the pulmonary response to endotoxin in awake sheep and upon *in vitro* granulocyte function. *J Clin Invest* 1984; 73:1.772-1.784.
154. Pryor WA, Hales BJ, Premovic PI, Church DF. The radicals in cigarette tar: Their nature and suggested physiological implications. *Science* 1983; 220:425-427.
155. Pryor WA. Methods of detecting free radicals and free-radicals-mediated pathology in environmental toxicology. En: Bhatnagar RS, ed. Molecular basis of environmental toxicology. Ann Arbor: Ann Arbor Science Publishers 1980; 3-36.
156. Moldéus P, Cotgreave IA, Berggren M. Lung protection by a thiolcontaining antioxidant: N-acetylcysteine. *Respiration* 1986; 50:31-43.
157. Cotgreave IA, Johansson U, Moldéus P, Brattsand R. The effect of acute cigarette smoke inhalation on pulmonary and systemic cysteine and glutathione redox states in the rat. *Toxicology* 1987; 45:203-212.
158. Hunninghake GW, Gadek JE, Kawanami O, Ferrans VJ, Crystal RG. Inflammatory and immune processes in the human lung



- in health and disease: evaluation by bronchoalveolar lavage. *Am J Pathol* 1979; 97:149-206.
159. Janoff A, Carp H, Proteases, antiproteases and oxydants, pathways and tissue injury during inflammation. *J Clin Invest* 1984; 73:1.175-1.184.
 160. Schraufstätter IU, Revak SD, Cochrane CG. Proteases and oxydants in experimental pulmonary inflammatory injury. *J Clin Invest* 1984; 73:1.175-1.184.
 161. Cross CE, Halliwell B, Allen A. Antioxidant protection: a function of tracheobronchial and gastrointestinal mucus. *Lancet* 1984; 1:1.328-1.330.
 162. Gaddum JH, Hebb CO, Silver A, Swan AAB. 5-hydroxytryptamine. Pharmacological action and destruction in perfused lungs. *QJ Exp Physiol Cogn Med Sci* 1953; 38:255-262.
 163. Cochrane CG. Immune complex mediated tissue injury. En *Mechanisms of immunopathology*, S. Cohen. Ward. P.A., and McCluskey (eds). New York: Wiley and Sons 1979; 29-48.
 164. Church DF, Pryor WA. Free radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 1985; 65:111-126.
 165. Pryor WA, Dooley MM, Church DF. The mechanisms of the inactivation of human alpha-1-proteinase inhibitor by gas-phase cigarette smoke. *Adv Free Radical Biol Med* 1986; 2:161-188.
 166. Speer CP, Pabst MJ, Hedegaard HB, Rest RF, Johnston RB jr. Enhanced release of oxygen metabolites by monocyte-derived macrophages exposed to proteolytic enzymes: activity of neutrophil elastase and cathepsin G. *J Immunol* 1984; 133:2.151-2.156.
 167. Fligiel SEG, Lee EC, McCoy JP, Hohnson KJ, Varani J. Protein degradation following treatment with hydrogen peroxide. *Am J Pathol* 1984; 115:418-425.
 168. Ward PA, Johnson KJ, Till GO. Oxygen radicals, neutrophils and acute tissue injury. En *AE Taylor, S Matalon and PA Ward. (eds) Physiology of oxygen free radicals. Clinical Physiological Series. American Physiological Society* 1986; 145-150.
 169. National Heart, Lung and Blood Institute. Division of Lung Disease Work-shop Report. The definiton of emphysema. *Am Rev Respir Dis.* 1985; 132:182-185.
 170. Gross P, Babyak MA, Tolker E, Kaschac M. Enzymatically produced pulmonary emphysema. A preliminary report. *J Occup Med* 1964; 6:481-484.
 171. Eriksson S. Pulmonary emphysema and alpha-1-antitrypsin deficiency. *Acta Med Scand* 1964; 175:197-205.
 172. Tsukamoto V, Helsel WE, Wahl SM. Macrophage production of fibronectin, a chemoattractant for fibroblasts. *J Immunol* 1981; 127:673-678.
 173. Leroyer V, Werner L, Shaughnessy SG, Goddard G, Orr FW. Chemiluminescence and oxygen radical generation by Walker carcinosarcoma cells after chemotactic stimulation. *Cancer Res* 1987; 47:4.771-4.775.
 174. Howell RW. Smoking habits and laboratory tests. *Lancet* 1971; 2:152.
 175. Reynolds HV, Newball HH. Analysis of proteins and thorax respiratory cells obtained by bronchial lavage. *J Lab Clin Med* 1974; 84:559-573.
 176. Starling EH, Verney EB. The secretion of urine as studied on the isolated kidney. *Proc R Soc London B Biol Sci* 1925; 97:321-363.
 177. Merrill WW, Naegel GP, Matthay RA, Reynolds HV. Alveolar macrophage-derived chemotactic factor. Kinetics of in vitro production and partial characterization. *J Clin Invest* 1980; 65:268-276.
 178. Dijkman JH, Franken C, Krangs JA, Meijer CJLM. Enzymes and enzyme-inhibitors in the small airways. *Eur J Resp Dis* 1982; 121(suppl):53-59.
 179. Hochtrasser K, Albrecht GJ, Schonberger OL, Rasche B, Lempart K. An elastase-specific inhibitor from human bronchial mucus. Isolation and characterization. *Physiol Chem* 1981; 362:1.963-1.975.
 180. Janoff A, Rajer L, Dearing R. Levels of elastase activity in bronchoalveolar lavage fluids of healthy smokers and nonsmokers. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:540-544.
 181. Gadek JE, Hunninghake GW, Fells GA et al. Validation of the alpha-1-antitrypsin hypothesis: recovery of active connective tissue-specific proteases from the lung of PiZ patients and reversal with alpha-1-antitrypsin replacement therapy. *Clin Res* 1981; 49:550.
 182. Gadek JE, Klein HG, Holland PV, Crystal RG. Replacement therapy of alpha-1-antitrypsin deficiency. Reversal protease-antiprotease imbalance with the alveolar structures of PiZ subjects. *J Clin Invest* 1981; 68:1.158-1.165.
 183. Gadek JE, Fulmer JD, Gelfand JA, Frank MM, Petty TL, Crystal RG. Danazol-induced augmentation of serum alpha-1-antitrypsin levels in individuals with marked deficiency of this antiprotease. *J Clin Invest* 1980; 66:82-87.
 184. Janoff A, Dearing R. Prevention of elastase-induced experimental emphysema by oral administration of synthetic elastase inhibitor. *Am Rev Respir Dis* 1980; 121:1.025-1.029.
 185. McCord JM, Wong K. Phagocyte-produced free radicals: roles in cytotoxicity and inflammation. En *Oxygen free radicals and tissue damage. Ciba Foundation Symposium 65 (new series). Excerpta Medica. Amsterdam, Oxford, New York* 1979; 343-360.
 186. Johnston RB Jr, Keele BB Jr, Misra HP, Webb LS, Lehmyer JE, Rajagopalan KV. Superoxide anion generation and phagocytic bactericidal activity. En *The phagocytic cell in host resistance. Bellanti JA, Dayton DH, eds. Raven Press. New York* 1975; 61-75.
 187. Johnston RB Jr, Newman SL. Chronic granulomatous disease. *Pediatr Clin N Am* 1977; 24:365-367.
 188. Ross D, Weening RS. Defects in the oxidative killing of microorganisms by phagocytic leukocytes. En *Oxygen free radicals and tissue damage. Ciba Foundation Symposium 65 (New Series) Excerpta Médica. Amsterdam. Oxford. New York* 1979; 225-254.
 189. Shaughnessy SG, Buchanan MR, Turple S, Richardson M, Orr FW. Walker carcinosarcoma cells damage endothelial cells by the generation of reactive oxygen species. *Am J Pathol* 1989; 134:787-796.
 190. Mukai FH, Goldstein BD. Mutagenicity of malonaldehyde, a decomposition product of peroxidized polyunsaturated fatty acids. *Science* 1976; 191:868-869.
 191. Wong GHW, Goeddel DV. Induction of manganous superoxide dismutase by tumor necrosis factor: possible protective mechanism. *Science* 1988; 242:941-944.
 192. Leibovich SJ. Production of macrophage-dependent fibroblast-stimulating activity (M-FSA) by murine macrophages. *Exp Cell Res* 1978; 113:47-56.
 193. Humes JL, Bonney RL, Pelus L, Dahlgren ME, Sadowski SJ, Kuehl FA Jr, Davies P. Macrophages synthesize and release prostaglandins in response to inflammatory stimuli. *Nature* 1977; 269:149-151.
 194. Polverini PJ, Contran RS, Gimbrone MA Jr, Unanue ER. Activated macrophages induce vascular proliferation. *Nature* 1977; 269:804-806.
 195. Bhathal PS. Presence of modified fibroblasts in cirrhotic livers in man. *Pathology* 1972; 4:139-144.
 196. Werb Z, Gordon S. Secretion of a specific collagenase by stimulated macrophages. *J Exp Med* 1975; 142:346-360.
 197. Adamson IVR, Bowden DH. Role of monocytes and interstitial cells in the generation of alveolar macrophages. II. Kinetic studies after carbon loading. *Lab Invest* 1980; 42:518-524.
 198. Goldstein BD. General discussion. En *Oxygen free radicals and tissue damage. Ciba Foundation Symposium 65 (New Series) Excerpta Medica. Amsterdam, Oxford, New York* 1979; 361.
 199. Mukai FH, Goldstein BD. Mutagenicity of malonaldehyde, a decomposition product of peroxidized polyunsaturated fatty acids. *Science* 1976; 191:868-869.
 200. Chio KS, Tappel AS. Synthesis and characterization of the fluorescent products derived from malonaldehyde and amino acids. *Biochemistry* 1969; 8:2.821-2.826.
 201. Chio KS, Tappel AS. Inactivation of ribonuclease and other enzymes by peroxidizing lipids and by malonaldehyde. *Biochemistry* 1969; 8:2.827-2.832.
 202. Conroy PJ, Nodes JT, Slater TF, White GW. The inhibitory effects of a 4-hydroxypentenal: cysteine adduct against sarcoma cells in mice. *Eur J Cancer* 1977; 13:55-63.
 203. Shamberger RJ, Andreone TL, Willis CE. Antioxidants and cancer IV. Initiating activity of malonaldehyde as a carcinogen. *J Natl Cancer Inst* 1974; 53:1.771-1.773.
 204. Troll W, Belman S, Goldstein BD, Mukai F, Machlin L. Effect of feeding unsaturated or saturated fat on carcinogenesis on mouse skin. En: *Proceedings of the American Association of Cancer Research. Cancer. Res* 1978; 19:106(Abstr.)
 205. Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 1983; 221:1.256-1.264.
 206. Griffin AC. Molecular interrelations of nutrition and cancer.



- Arnott MS, Veney J, Wang YM, Eds. Raven Press New York 1982; 401-408.
207. Willet WC, Morris JS, Pressel S, et al. Prediagnostic serum selenium and risk of cancer. *Lancet* 1983; 8343: 130-134.
208. Finer NL, Peters KL, Schindler RF, Grant GD. Vitamin E and retrolental fibroplasia: prevention of serious ocular sequelae. *En Biology of vitamin E. Ciba Foundation Symposium (101)*. Pitman. London 1983; 143-163. Discussion between Wilson and Pryor; 159-160.
209. Windle ML, Miwa LJ. Vitamin E in children with chronic cholestasis. *Drug Intell and Clin Phar* 1988; 22:491-492.
210. Forstrom JW, Zakowski JJ, Tappel AL. Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. *Biochemistry* 1978; 17:2.639-2.644.
211. Tamba M, Bonora S, Badiello R. Pulse radiolysis of selenium containing compounds: Selenomethionine. *Z Naturforsch* 1974; 29b:571-572.
212. Adamson IVR, Bowden DH, Wyatt JP. Oxygen poisoning in mice. Ultrastructural and surfactant studies during exposure and recovery. *Arch Pathol* 1970; 90:463-472.
213. Hafeman DG, Hoekstra WG. Lipid peroxidation *in vivo* during vitamin E and selenium deficiency in the rat as monitored by ethane evolution. *J Nutr* 1977; 107:666-672.
214. Nugteren DH, Hazelhof E. Isolation and properties of intermediates in prostaglandin biosynthesis. *Biochem Biophys Acta* 1973; 326:448-461.
215. Gryglewsky RJ, Bunting S, Moncada S, Flower RJ, Vane JR. Arterial walls are protected against deposition of platelet thrombi by a substance (prostaglandin X) which they make from prostaglandin endoperoxides. *Prostaglandins* 1976; 12:685-713.
216. Bowden DH, Adamson IYR. Reparative changes following pulmonary cell injury. Ultrastructural, cytodynamic and surfactant studies in mice after oxygen exposure. *Arch Pathol* 1971; 92:279-283.
217. Bowden DH, Adamson IVR. Endothelial repair as a marker of the differential vascular response in oxygen-induced pulmonary edema. *Lab Invest* 1974; 30:350-357.
218. Ono T. Enzyme patterns and malignancy of experimental hepatomas. *En Biological and Biochemical evaluation in experimental hepatomas*. Yoshida T (ed). Japanese Cancer Association. Tokio 1966; 189.
219. Wickramasinghe RH, Reddy PK, Villet CA. Superoxide anions and other components of human renal adenocarcinoma. *Clin Biochem* 1970; 9:24-30.
220. Bozzi A, Mavelli I, Finazzi A et al. Enzyme defence against reactive oxygen derivatives. II, Erythrocytes and tumor cells. *Moll Cell Biochem* 1976; 10:11-16.
221. Sun AS, Cederbaum I. Oxidoreductase activities in normal rat liver, tumor-bearing rat liver and hepatoma HC-252. *Cancer Res* 1980; 40: 4.677-4.681.
222. Oberley LW. Superoxide dismutase and cancer. *En Superoxide dismutase*. CRC. Press Inc. Boca Raton, Florida 1982; 138.
223. Weisiger RA, Fridovich I. Superoxide dismutase. Organelle specificity. *J Biol Chem* 1973; 248:4.793-4.796.
224. Haber F, Willstätter R. Unpaarigkeit und Radikalketten im Reaktions-mechanismus organischer und enzymatischer Vorgänge. *Berichte* 1931; 64:2.844-2.856.
225. Hydroxyl radicals; *in vivo* relevance: Discussion between Michelson AM, Willaon RL. *En: Oxygen Free Radicals and Tissue Damage. Ciba Foundation Symposium 64 (New Series) 1979; 36*.
226. Orr FW, Warner DJA. Effect of neutrophil-mediated pulmonary endothelial injury on the localization and metastasis of circulating Walker carcinosarcoma cells. *Invasion Metastasis* 1987; 7:183-196.
227. Adamson I, Orr FW, Young I. Effects of injury and repair of the pulmonary endothelium on lung metastasis after bleomycin. *J Pathol* 1986; 150:279-287.
228. Adamson I, Young I, Orr FW. Tumor metastasis after hyperoxic injury and repair on the pulmonary endothelium. *Lab Invest* 1987; 57:71-77.
229. Dao TL, Yogo H. Enhancement of pulmonary metastasis by X-radiation in rats bearing mammary cancer. *Cancer* 1976; 20:2.020-2.025.
230. Hirata H, Tanaka K. Artificial metastases and decrease of fibrinolysis in the nude mouse lung after hemithoracic irradiation. *Clin Exp Met* 1984; 2:311-319.
241. Crapo JD, Barry BE, Foscue HA, Shelburne J. Structural and biochemical changes in rat lungs occurring during exposures to lethal and adaptive doses of oxygen. *Am Rev Respir Dis* 1980; 122:123-143.
242. Szoke E, Kikkawa Y. Repair in centrilobular and peripheral alveoli after acute hyperoxic injury (abstr). *Am Res Respir Dis* 1984; 129:310.
243. Evans MJ, Hackney JD. Cell proliferation in lungs of mice exposed to elevated concentrations of oxygen. *Aerosp Med* 1972; 43:620-622.
244. Evans MJ, Hackney JD, Bils RF. Effects of a high concentration of oxygen on cell renewal in the pulmonary alveoli. *Aerosp Med* 1969; 40:1.365-1.368.
245. Thet LA, Wrobel DJ, Crapo JD, Shelburne JD. Morphologic aspects of the protection by endotoxin against acute and chronic oxygen-induced lung injury in adult rats. *Lab Invest* 1983; 4:448-457.
246. Välimäki M, Niinikoski J. Development and reversibility of pulmonary oxygen poisoning in the rat. *Aerosp Med* 1973; 44:533-538.
247. Rudolph R, Guber S, Suzuki M, Woodward M. The life cycle of the myofibroblast. *Surg Gynecol Obstet* 1977; 145:389-394.
248. Culp LA, Murray BA, Rollins BJ. Fibronectin and proteoglycans as determinants of cell-substratum adhesion. *J Supramol Struct* 1979; 11:401-427.
249. Hotzman JL, Crankshaw DL, Peterson FG, Plonaszek CF. The kinetics of aerobic reduction of nitrofurantoin by NADPH-cytochrome P450 reductase. *Mol Pharmacol* 1981; 20:669-673.
250. Martin WJ. Nitrofurantoin: evidence for the oxidant injury of lung parenchyma cells. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:482-486.