

# Biyolojik Sistemlerde Peroksinitritin Rolü

## THE ROLE OF PEROXYNITRITE IN BIOLOGIC SYSTEMS

Müge TECDER-ÜNAL\*, Hale TUFAN\*

\* Yrd.Doç.Dr., Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, ANKARA

### Özet

Nitrik oksit ile süperoksidin reaksiyon ürünü olan peroksinitrit çok kısa yarı ömürlü ancak oksidatif doku hasarına neden olan son derece reaktif bir moleküldür. Peroksinitrit oluşumu pro-oksidan maddelerin oluşumuna neden olmanın yanında, fizyolojik etkilerini ve güçlü antioksidan etkilerin değiştirerek 'NO'nun biyoyararlanımını da azaltır. Peroksinitrit iskem-reperfüzyon, sepsis, inflamasyon, ateroskleroz gibi bir çok patofizyolojik olayın patogenezinde rol oynar. Kısa biyolojik yarı ömrü ve birçok hedef molekülle reaksiyonu nedeniyle peroksinitritin rolü, kendisini oluşturan radikaller ve ayrıca dekompozisyon ürünleriyle beraber incelenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Peroksinitrit, Nitrik oksit, İskemi-reperfüzyon

T Klin Kardiyoloji 2003, 16:110-118

### Summary

Peroxynitrite, the combination reaction product between nitric oxide and superoxide, is short-lived but highly reactive species which causes oxidative tissue damage. In addition to the pro-oxidant species generation, peroxynitrite formation results in reduced bioavailability of 'NO, therefore changing its physiological nature and its strong antioxidant actions. Peroxynitrite contribute to the pathogenesis of diseases including ischaemia-reperfusion, sepsis, inflammation, atherosclerosis, etc. Because of its short biological half-life and multiple target molecule reactions, evaluation the role of peroxynitrite must be considered with the radicals which it forms, and also its decomposition products.

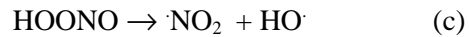
**Key Words:** Peroxynitrite, Nitric oxide, Ischaemia-reperfusion

T Klin J Cardiol 2003, 16:110-118

Bazı hücrelerin yalnız bir değil, birden fazla radikali ( $O_2^{\cdot-}$  ve 'NO gibi) aynı anda üretebileceği gösterilmiştir. 1990'da Beckman ve arkadaşları  $O_2^{\cdot-}$  ve 'NO'nun peroksinitrit ( $ONOO^{\cdot-}$ ) oluşturmak üzere birleşebildiğini ve peroksinitröz asitin ( $ONOOH$ ), biyolojik olarak aktif hidroksil radikalinin ( $HO^{\cdot}$ ) kaynağı olduğunu göstermişlerdir (1). Daha sonra forbol esteri ile aktive edilmiş alveolar makrofajlarda  $ONOO^{\cdot-}$  oluşumu gösterilmiştir (2). Bu bulgulardan sonra  $ONOO^{\cdot-}$  ile ilgili araştırmalar hız kazanmıştır.

### Biyolojik Sistemlerde Peroksinitrit Oluşumu

$O_2^{\cdot-}$  ve 'NO,  $ONOO^{\cdot-}$  oluşturmak üzere difüzyon kontrollü limite yakın sabit bir hızla reaksiyona girerler (a).  $ONOO^{\cdot-}$ ,  $HOONO$  ile denge halindedir (b).



Reaksiyonların hız sabitleri karşılaştırıldığında, Tablo 1'de görüldüğü gibi  $O_2^{\cdot-}$  ve 'NO'nun  $ONOO^{\cdot-}$  oluşturma hız sabiti süperoksidin SOD ile, nitrik oksidin de hem bileşikleri ile olan reaksiyonlarının hız sabitinden çok daha büyüktür (3). Buradan  $O_2^{\cdot-}$  ve 'NO'nun reaksiyona girerek  $ONOO^{\cdot-}$  oluşturmalarının, süperoksidin SOD ile, 'NO'nun hem bileşikleri ile reaksiyonundan daha dominant bir reaksiyon olduğu sonucuna varılmıştır. 'NO ve  $O_2^{\cdot-}$ ,  $ONOO^{\cdot-}$  oluşturmak üzere reaksiyona girdikleri için birbirlerinin etkilerini modüle ederler. Bir başka deyişle 'NO ve SOD, süperoksid radikali için birbirleriyle yarışır. 'NO'nun,  $O_2^{\cdot-}$ 'yi bu meka-

**Tablo 1.** Nitrik oksit ve süperoksitin birbirleriyle ve diğer biyolojik maddeler ile olan reaksiyonlarının hız sabitlerinin karşılaştırılması

REAKSİYON	HIZ SABİTİ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> + ·NO → OO—N=O	7x10 <sup>9</sup>
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> + SOD → O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2x10 <sup>9</sup>
·NO + Fe (II)-hem →	~10 <sup>7</sup>
·NO + Fe (III)-hem →	10 <sup>2</sup> -10 <sup>7</sup>

nizma ile temizleyebildiği bir çok çalışma ile gösterilmiştir (4).

Bazal şartlarda O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve ·NO'nun, dolayısıyla da bunların reaksiyon ürünü olan ONOO<sup>-</sup> 'nun konsantrasyonu çok düşüktür. Bazı patolojik olayların neden olduğu stimülasyon O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve ·NO miktarlarını artırdığından, bu durumlarda ONOO<sup>-</sup> oluşumu da artmaktadır.

Endotel hücreleri (1), lökositler (5), nötrofiller (6), sinir hücreleri (7), beyin hücreleri (7, 8) gibi bir çok hücre ·NO ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> 'yu beraber üretebilmektedir. Tüm bu hücrelerde, iki radikalın ONOO<sup>-</sup> oluşturmak üzere birleştiği de gösterilmiştir. ·NO ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> 'nun ayrı ayrı biyolojik etkilerinin yanı sıra, patolojik etkileri de dikkate alınmalıdır. ·NO ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> 'nun reaksiyon ürünü olan ONOO<sup>-</sup> 'nun da, normal hücre fonksiyonları üzerinde de rolü vardır, fakat bunun ayrıntıları henüz tam olarak bilinmemektedir.

### Peroksinitritin Patofizyolojik Olaylardaki Rolü

Son zamanlarda felç, miyokardiyal iskemi-reperfüzyon (İ/R), immünokompleks aracılıklı pulmoner ödem, pulmoner amfizem, obliteratif bronşiyolit, ateroskleroz, kronik böbrek yetmezliği, hücre aracılıklı inflamatuvar olay, sepsis gibi patolojik durumlarda hasardan sorumlu ajan olarak ONOO<sup>-</sup> 'nun rolü tartışılmaya başlanmıştır (9). Aşağıda peroksinitritin rol oynadığı fizyolojik sistemler ve patofizyolojik olaylar değerlendirilmiştir:

#### 1. Hücre Hasarı:

Mitokondri, hücre içi oksijen radikallerinin önemli bir kaynağıdır. Aynı zamanda, radikallerin

hücre içi hedef yapılarındandır. Tüm serbest oksijen radikalleri mitokondriye saldırdığında, mitokondride şişme, solunum inhibisyonu, lipid peroksidasyonu, mitokondriyal antioksidanların tüketilmesi ve Ca<sup>2+</sup> dengesinin bozulması gibi zincirleme olaylar gözlenir. ·NO'nun neden olduğu sitotoksik etkinin de mitokondriyalardan olduğu sanılmaktadır (9). ·NO'nun Fe/S içeren enzimleri inaktive ederek, DNA sentezini ve mitokondriyal elektron transportunu inhibe edip hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca mitokondriyal sitokrom oksidaz da yine ·NO'nun hedefleri arasındadır (10).

ONOO<sup>-</sup> 'nun mitokondriyal elektron transportunda oluşturduğu değişiklikler peroksinitritin sitotoksik etkisinin de aslını oluşturur (11, 12). Sıçan kalbi homojenatlarından elde edilen mitokondri süspansiyonlarında yapılan bir çalışmaya göre, elektron transport zinciri içinde ONOO<sup>-</sup> başlıca süksinat dehidrogenaz ve ATPaz, daha az olmak üzere NADH dehidrogenaz inhibisyonu yapar (13). Sitokrom C oksidaz ise çok daha az etkilenir. Ayrıca ONOO<sup>-</sup> 'nun mitokondriyal kompleks I, II ve III'ün inhibisyonunda rol oynaması ve mitokondriden siklosporin duyarlı Ca<sup>2+</sup> çıkışı indüklemesi de yine ONOO<sup>-</sup> aracılıklı hücre hasarında rol oynamaktadır (14).

ONOO<sup>-</sup> ve ·NO ile oluşan hücre hasarının karşılaştırıldığı çalışmalarda, endotel ve epitel hücrelerin ONOO<sup>-</sup> 'nun neden olduğu hücre hasarından korunmadığı, epitel hücrelerinin 8 saat içinde, endotel hücrelerinin ise 18 saatten sonra öldüğü görülmüştür. Aynı şartlarda uygulanan ·NO'nun ise endotel hücrelerinde hasar oluşturmadığı, epitel hücrelerinin ise ölümüne neden olduğu görülmüştür. Yani endotel hücrelerini ·NO'nun oksidan hasarından koruyan sistem ONOO<sup>-</sup> hasarına karşı etkisiz kalmaktadır.

Radi ve arkadaşları 1993 yılında yaptıkları çalışmada ise o zamana kadar olanlardan daha farklı bir yöntemle çalışmıştır (15). Araştırmacılar ONOO<sup>-</sup> 'nun parazitik aktivitesini *Trypanosoma cruzi* üzerinde incelemişler ve sitotoksik etkisinden faydalanarak ONOO<sup>-</sup> 'nun *in vivo* olarak *T. cruzi* 'yi öldürdüğünü göstermişlerdir. Hücre mem-

branlarından rahatlıkla difüze olabilen ONOO<sup>-</sup>'nin *T. cruzi* hücrelerinin replikasyonunu azaltıcı etkisinin konsantrasyonu ile orantılıdır. Bunun yanında ONOO<sup>-</sup>, hücre hareketliliğini önleyici ve hücre şişmesi ile sonuçlanan etkilere de neden olur. Araştırmacılar bu çalışma ile ONOO<sup>-</sup>'nin dekompozisyon ürünlerinden bağımsız kendi sitotoksik etkisini göstermişlerdir.

HL-60 hücrelerinde yapılan bir başka çalışmada ONOO<sup>-</sup>'nin konsantrasyon ve zaman bağımlı bir şekilde apoptozisi indüklediği gösterilmiştir (16). ONOO<sup>-</sup> kendisi apoptozisi indüklediği gibi, formasyonuna neden olduğu reaktif oksijen bileşikleri de bu olayın devamlılığında rol oynar.

## 2. DNA Hasarı:

Çok çeşitli çevresel stimulusların yanı sıra serbest radikal ya da oksidanların da DNA'da tek zincir kırıkları oluşturabildikleri bilinmektedir (9, 17). Organizmada oksidan bir stres yaratan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH<sup>-</sup>, NO, HONOO ve ONOO<sup>-</sup>, DNA kırıklarına yol açan reaktiflerin başında gelirler. DNA kırıkları, poli (ADP-riboz) sentetaz (PARS) denilen onarıcı bir enzimin aktive olmasını tetikler. Bu enzim aynı zamanda poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) ya da poli (ADP-riboz) transferaz (pADPRT) olarak da bilinir. PARS hücre çekirdeğinde bol miktarda bulunan ve adenozin difosfat riboz ünitelerinin homopolimerizasyonunu sağlayan bir enzimdir. PARS hücre içi NAD<sup>+</sup>'yi substrat olarak kullandığı için glikolizin ve elektron transportunun yavaşlamasına, dolayısıyla ATP oluşumunun azalmasına neden olur. Bu olaylar zincirinin neden olduğu enerji açığına bağlı olarak, ONOO<sup>-</sup> gibi aşırı oksidan stres yaratan durumlar hücrenin disfonksiyonu ve ölümü ile sonuçlanır. Sıçan vasküler düz kas hücreleri ve makrofajlarında yapılan çalışmalar ONOO<sup>-</sup>'nin potent bir PARS aktivatörü olduğunu göstermiştir (17-19). Endotoksik şok (20, 21), iskemi-reperüzyon (17), inflamasyon (22), diyabet (23) gibi bir çok patolojik olayda PARS inhibitörlerinin koruyucu olduğu gösterilmiştir. Ancak ONOO<sup>-</sup>'nin rol oynadığı bu patofizyolojik olaylarda PARS'ın rolü hala tartışmalıdır. Yapılan çalışmalar sıçanda miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu olduğu gösterilen PARS inhibitörlerinin, direkt bir ONOO<sup>-</sup>

süpürücüsü ya da NOS inhibitörü olmadığını göstermiştir (17). Oksidan strese bağlı DNA kırıklarının oluşması ardından PARS enziminin aktive olması belli bir süre gerektirdiğinden, ONOO<sup>-</sup>'nin rol oynadığı ve ani başlayan olaylarda PARS'ın rolü zaman yönünden de tartışmalıdır.

## 3. Vasküler Yapılar:

Son yıllarda elde edilen farklı yöndeki bulgularla beraber ONOO<sup>-</sup>'nin *in vitro* ve *in vivo* olarak vazodilatör olduğunu gösteren bir çok çalışma mevcuttur (24-28). ONOO<sup>-</sup>'nin vazodilatör etkisi bir çok soruyu da beraberinde getirmiştir. Bu etkinin ONOO<sup>-</sup>'nin kendi etkisi mi, yoksa dekompozisyon ürünlerinin, ya da dönüştüğü daha potent bir ara maddenin etkisi mi olduğunun anlaşılması gerekmektedir. Bilindiği gibi ONOO<sup>-</sup> fizyolojik tamponlarda S-nitrozotiyoller (S-nitrososistein, S-nitrozoglutasyon gibi) (24), S-nitroalbumin (24) ve nitrozoglukoz (29) gibi ara ürünler oluşturabilmektedir ki, bu maddelerin de vazodilatör etkisi vardır. Ayrıca *in vivo* şartlarda ONOO<sup>-</sup>'nin stabil dekompozisyon ürünü olan nitrat ve nitrit de vazodilatasyon yapar. Bütün bunlara ilave olarak farklı birçok molekülle etkileşimi olan bu molekülün *in vitro* (27) ve *in vivo* (28) vasküler etkilerinin birbirinden farklı olması şaşırtıcı değildir.

*In vitro* olarak uygulanan ONOO<sup>-</sup>'nin oluşturduğu vazodilatasyonun hemoglobin ile inhibe olduğu görülmüştür (26, 30). Buradan ONOO<sup>-</sup> aracılıklı vazodilatasyonda NO ya da NO donörü gibi davranan nitrozil ürünlerinin rolü olabileceği düşünülmüştür. Pulmoner arterlerde yapılan bir çalışmada siklik guanozin monofosfat (sGMP) inhibitörü olan LY 83583'ün ONOO<sup>-</sup>'nin neden olduğu vazodilatasyonu kısmen inhibe ettiği gösterilmiştir. Ancak son yıllarda yapılan bir çalışma ile NO bağımlı vazodilatasyonda rol oynayan cGMP'nin ONOO<sup>-</sup> aracılıklı vazodilatasyonda rolü olmadığı gösterilmiştir (31).

ONOO<sup>-</sup> aracılıklı vazodilatasyonun mekanizmasını aydınlatmaya yönelik yapılan çalışmalar ile olayda ATP duyarlı potasyum kanallarının rolü olabileceği gösterilmiştir (7). Anesteziye kedinin serebral arterinde düşük doz ONOO<sup>-</sup> ile oluşan vazodilatör cevabın gliburid ile inhibe olması bunu

desteklemektedir. ONOO<sup>-</sup> 'nun vasküler etkileri değerlendirilirken, ONOO<sup>-</sup> oluşumu ile azalan NO'nun neden olduğu cGMP stimülasyonunun ve antinötrofil etkinliğin azalacağı, ayrıca yine O<sub>2</sub><sup>-</sup> 'nun nötralizasyonuna bağlı olarak endotelial ve vasküler hasarında azalacağı da göz önünde bulundurulmalıdır. Oluşacak net vasküler etki ONOO<sup>-</sup> konsantrasyonuna bağlı olarak birbirinden farklı yönde tetiklenen bu reaksiyonların toplamı şeklinde olacaktır.

### 3. 1. Koroner Damarlar:

Koroner damarlar üzerinde ONOO<sup>-</sup> 'nun etkilerini incelemek için izole köpek koroner arter preparatlarında yapılan bir çalışmada, ONOO<sup>-</sup> 'nun endotelden bağımsız olarak koroner damarlarda gevşeme yaptığı gösterilmiştir (30). Düşük doz ONOO<sup>-</sup> 'nun yarattığı bu gevşeme hızlı ve geri dönüşümlü olduğundan, burada guanilat siklazın geri dönüşümsüz oksidasyonu söz konusu olamaz. ONOO<sup>-</sup> 'nun neden olduğu bu gevşeme SOD ile şiddetlenirken, hemoglobin ile ortadan kalkmaktadır. O halde bu gevşetici etki, peroksinitritiden yeniden NO oluşması ile açıklanabilir. Biyolojik sistemlerde bikarbonat iyonlarının varlığında ONOO<sup>-</sup> nitrik oksit oluşumuna neden olabilmektedir. Termodinamik olarak bu pek olası değilmiş gibi gözükse de (-22 kcal.mol<sup>-1</sup>) ara ürünlerin bu reaksiyon için gerekli enerjiyi sağlayabileceği düşünülmektedir.

Diğer bir çalışma ile izole perfüze sıçan kalbinde ONOO<sup>-</sup> 'nun sıçan koroner damar yatağında doz bağımlı gevşemelere neden olduğu gösterilmiştir (26). ONOO<sup>-</sup> aracılıklı vazodilatasyon daha önce de köpek arter preparatlarında ve insan pulmoner arterlerinde gösterilmiştir. Bu gevşeme yanıtlarına karşı kısa sürede taşiflaksi geliştiğinden, ONOO<sup>-</sup> 'nun vasküler yatakta yaygın ama kalıcı olmayan değişiklikler yarattığı sonucuna varılabilir. Ayrıca bu gevşeme yanıtlarının oksihemoglobin ile önlenbilir olması, ONOO<sup>-</sup> aracılıklı vazodilatasyondan NO'nun sorumlu olabileceğini düşündürmüştür. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda ONOO<sup>-</sup> aracılıklı vazodilatasyona karşı taşiflaksi gelişmemiştir (32). Fakat araştırmacılar bu farklılığın uygulanan ONOO<sup>-</sup> dozundan kaynaklanmış olabileceği üzerinde durmaktadır.

PGI<sub>2</sub> ve NO endotel bağımlı vazodilatasyon yapan sinerjistik maddelerdir. Her iki maddenin biosentezi moleküler oksijen bağımlıdır, hipoksinin hem PGI<sub>2</sub> hem NO salınımını azaltması vazodilatör cevapların maskelenmesine, buna bağlı olarak vazokonstriksiyon ve doku iskemisine neden olur. Reperfüzyon sırasında oluşan O<sub>2</sub><sup>-</sup> ile NO 'nun reaksiyon ürünü olan ONOO<sup>-</sup> çok düşük konsantrasyonlarda bile PGI<sub>2</sub> sentezini bloke eder. Yani O<sub>2</sub><sup>-</sup> hem NO ile reaksiyona girerek NO'nun vazodilatör etkisini bloke ederken, hem de reaksiyon ürünü olan ONOO<sup>-</sup> ile PGI<sub>2</sub> sentezini bloke ederek vazodilatör etkiyi inhibe eder. ONOO<sup>-</sup> 'nun PGI<sub>2</sub> sentezini bloke ettiği ilk kez domuz aort şeritlerinde gösterilmiştir (33). ONOO<sup>-</sup> 'nun neden olduğu PGI<sub>2</sub> sentezini blokajı ilk 5 sn içinde oluşan hızlı bir reaksiyondur ve geri dönüşümsüzdür. HOCl de PGI<sub>2</sub> sentezini bloke eder ama, bu blokaj 30 dk sonunda oluşur ve IC<sub>50</sub>'si de ONOO<sup>-</sup> 'nunkinden 100 kat daha küçüktür.

### 3. 2. Ateroskleroz:

Beckman ve arkadaşları yaptıkları immünohistokimyasal çalışmalarda, aterosklerotik insan koroner arterlerinde nitrotirozin rezidülerini göstermişlerdir (2). Tirozin ONOO<sup>-</sup> ile nitratlanabilirken, NO ile nitratlanamaz. Buna dayanarak, aterosklerotik plaklarda NO değil ama ONOO<sup>-</sup> oluşumunun söz konusu olabileceği öne sürülmüştür.

Aterosklerotik kişilerde endotel bağımlı vasküler gevşemelerin azaldığı görülmüştür (34). Bunda NO'nun fonksiyonel modifikasyonunun rolü olabileceği sonucuna varılmıştır. Difüzyon yeteneğine sahip olan NO'nun, sGMP bağımlı olarak vasküler düz kas hücrelerinde gevşemeye neden olduğu bilinmektedir. Kolesterolde zengin diyetle beslenen tavşanlarda yapılan bir çalışma ile, potent bir oksidan ve vasküler doku hasarı mediatörü olan ONOO<sup>-</sup> 'nun, ateroskleroz patogenezindeki rolü araştırılmıştır (35). Hiperlipidemik çevrenin vasküler O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve NO dengesini bozduğu görülmüştür. Vasküler gevşemedeki azalma O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve NO'nun reaksiyonunun sonucudur. Bu reaksiyonun ürünü olan ONOO<sup>-</sup> 'nun iki farklı mekanizma ile ateroskleroz patogenezinde rol aldığı öne sürülmüştür: İlk olarak, NO ile kar-

şılaştırıldığında ONOO<sup>-</sup> zayıf bir siklik guanilil siklaz stimulanı olduğundan, vasküler düz kas gevşemelerini azalmaktadır. Ayrıca ONOO<sup>-</sup> doğrudan lipoprotein oksidasyonu ile karakterize aterosklerotik plak oluşumuna katılır.

#### 4. Trombosit, Eritrosit, Lökositler:

Trombosit fonksiyonlarını ONOO<sup>-</sup> 'nun nasıl etkilediğini incelemek için, *in vitro* olarak insan trombositleri üzerinde yapılan bir çalışmada, bu etkinin kullanılan trombositin hazırlanmış yöntemine göre değiştiği görülmüştür (36). ONOO<sup>-</sup> yıkanmış trombositlerin (trombositten fakir plazma ile yapılan çalışmalarda) agregasyonuna neden olurken, trombositden zengin plazmada agregasyonun inhibisyonuna neden olur. Yıkanmış trombositlerin ONOO<sup>-</sup> ile agregasyonu, KAT, SOD, mannitol, desferrioksamin, dietilenetriaminpentaasetik asit ile değişmediğinden, bunun ONOO<sup>-</sup> 'nun doğrudan kendi etkisi olduğu; hidrojen peroksit, süperoksit ya da hidroksil radikalının oluşumunun sorumlu olmadığını ortaya koymuştur. Buradan ONOO<sup>-</sup> 'nun trombosit fonksiyonları üzerindeki etkisinin, antioksidan sistemin de dahil olduğu biyolojik çevre şartları ile yakından ilgili olduğu sonucuna varılmıştır. Yine trombositin zengin plazma ile yapılan bir başka çalışma, ONOO<sup>-</sup> uygulanmasının ya da tirozin nitrasyonunun trombosit-trombin duyarlılığını azalttığını göstermiştir (37). Buradan ONOO<sup>-</sup> 'nun trombosit fonksiyonları üzerindeki etkisinde, tirozin nitrasyonunun önemli bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır.

İnsan izole eritrositlerinde Kondo ve arkadaşlarının yaptığı çalışma, ONOO<sup>-</sup> donörü olan 3-morfolinononimin (SIN-1)'in doz bağımlı hemolitik etkisini göstermiştir (38). Bu hemolitik etki, ONOO<sup>-</sup> süpürücüleri trolaks ve ürik asit ile kısmen, albumin ve glutasyon gibi antioksidanlar ile tamamen önlenir. Bilindiği gibi SIN-1, O<sub>2</sub><sup>-</sup> ile NO'nun spontan oluşumuna neden olarak ONOO<sup>-</sup> donörü gibi davranır. ONOO<sup>-</sup> oluşumu, eritrosit lipid membranının lizisine neden olarak NO süpürücüsü hemoglobinin açığa çıkmasına neden olur. SIN-1'in ONOO<sup>-</sup> oluşturma mekanizması NO üzerinden olduğu için, bu basamakda olay suprese olur ve hemolizin devamlılığı sağlanamaz. Mekanizması tam aydınlatılmamış olmasına rağmen,

ONOO<sup>-</sup> 'nun hemolitik etkisinde lipid membran lizisinin rolü olduğu düşünülmektedir .

NO ile yapılan çalışmalarda, NO'nun nanomolar konsantrasyonlarda sitoprotektif etkileri olmasına rağmen, mikromolar konsantrasyonlarda sitotoksik etki göstermesi, ONOO<sup>-</sup> 'nun sitotoksik etkisinin gözlemlendiği çalışmalara yeni bir bakış açısı getirmiştir. Lefer ve arkadaşları polimorfonükleer lökositler (PMNL) ile endotel hücre ilişkisinde ONOO<sup>-</sup> 'nun doz bağımlı etkilerini incelemiştir (39). Sıçan mezenterik arter preparatlarında ONOO<sup>-</sup>, nanomolar konsantrasyonlarda (100-1.000 nM) lökosit-endotel hücre ilişkisini inhibe ederek sitoprotektif etki göstermiştir. Bu çalışmanın *in vitro* bölümünden sonra, sıçan mezenter postkapiller venülüne yerleştirilen bir video aracılığıyla yapılan *in vivo* kısmında, ONOO<sup>-</sup> 'nun 0,8 µM konsantrasyonlarda lökosit-endotel ilişkisini inhibe ettiği gösterilmiştir. ONOO<sup>-</sup> 'nun yalnız nanomolar konsantrasyonlardaki lökosit-endotel ilişkisinin inhibisyonuna bağlı sitoprotektif etkisinin, İ/R gibi endotel hasarıyla giden durumlarda rolünün olup olamayacağı tartışma konusudur.

#### 5. Miyokard Fonksiyonları:

Schulz yaptığı deneylerde ONOO<sup>-</sup> infüzyonunun izole sıçan kalbi mekanik fonksiyonları üzerine etkisini, NO ile karşılaştırmalı olarak araştırmıştır ve 40 µmol ONOO<sup>-</sup> 'nun O<sub>2</sub> tüketiminde bir değişiklik yapmaksızın, kalp işinde anlamlı bir azalma yaptığı görmüştür (32). ONOO<sup>-</sup> doğrudan ya da dolaylı olarak NO donörü gibi davranabildiğinden, etkinin NO'dan kaynaklanıp, kaynaklanmadığı araştırılmıştır. Ekzojen olarak NO donörü SNAP uygulaması, O<sub>2</sub> tüketimi ya da kardiyak işte bir değişiklik yaratmamıştır. Yine aynı çalışmada, ONOO<sup>-</sup> 'nun koroner kan akımını artırıcı etkisi hemen gözlenmiş olmasına karşın, kardiyak depresan etkilerinin başlamasına kadar 30 dakika süren bir gecikme fazı söz konusudur. ONOO<sup>-</sup> 'nun fizyolojik şartlardaki yarı ömrünün kısalığı düşünüldüğünde, çelişkili bir sonuç gibi durabilir. Bu durum ONOO<sup>-</sup> infüzyonunun, hücre homeostazında kümülatif etki göstermesi ile açıklanabilir. ONOO<sup>-</sup> 'nun tiyol ve lipid oksidasyonu, mitokondriyal Ca<sup>2+</sup> 'nın saliverilmesi ve DNA kır-

ğın oluşturuca etkisi potansiyalize olarak kümülatif cevaba neden olmaktadır. ONOO<sup>-</sup> 'nun kardiyak depresan etkisinin enerji tüketimi ile ilişkisi, eş zamanlı incelendiğinde ise, ONOO<sup>-</sup> 'nun glikoliz ve glukoz oksidasyonunu artırdığı görülmüştür. ONOO<sup>-</sup> ile artmış glikolizin neden olduğu asidik yükün hücre içi iyon dengesini, buna bağlı olarak da miyokard fonksiyonlarını bozmuş olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca ONOO<sup>-</sup> ile Ca<sup>2+</sup> dengesinin değişmesi, kontaktil proteinlerin fonksiyonlarını bozabileceğinden yine miyokard kasılabilirliğini azaltacaktır.

Miyosit hücre kültüründe yapılan bir başka çalışmada, ONOO<sup>-</sup> 'nun Ca<sup>2+</sup> taşıyıcı sistemleri etkileyerek hücre içi Ca<sup>2+</sup> miktarını artırdığı gösterilmiştir (40). Burada ilginç olan ONOO<sup>-</sup> ile hücre içi Ca<sup>2+</sup> miktarının artmasına rağmen, miyosit hareketlerinin azalmasıdır. Bu çalışmada, Ca<sup>2+</sup> 'nın sarkoplazmik retikulum gibi hücre içi depolardan boşalmadığı, ONOO<sup>-</sup> 'nun plazma membranından hücre içine Ca<sup>2+</sup> girişini artırdığı gösterilmiştir. Artmış hücre içi Ca<sup>2+</sup> miktarlarına rağmen, miyosit hareketliliğinin geri dönüşümsüz olarak azalmasının, hücre içi kontraktil proteinlerin Ca<sup>2+</sup> duyarlılığının azalması ile açıklanabileceği öne sürülmüştür.

Yine izole sıçan papiller kasında yapılan bir çalışmada ise ONOO<sup>-</sup> 'nun direkt etkisiyle papiller kasın kasılma gücünü ve dinlenme geriminin geridönüşümsüz olarak azaldığı gösterilmiştir (41). Bu etki hem sistolik hem diastolik kalp fonksiyonlarının bozulması ile sonuçlanmıştır.

## 6. İskemi / Reperfüzyon Hasarı:

Bir çok doku modelinde yapılan çalışmalarda SOD'un, I/R gibi oksidan stres yaratan durumlarda, oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarını sınırladığı gösterilmiştir (9). SOD'un koruyucu etkisinin, O<sub>2</sub><sup>-</sup> 'nin temizlenmesiyle NO 'nun dekompozisyonunun önlenmesine bağlı olarak, normal vazodilatasyonun ve trombosit fonksiyonlarının sağlanmasına bağlı olduğu öne sürülmüştür (1). *In vivo* olarak SOD'un ONOO<sup>-</sup> oluşumunu dolaylı yoldan önlemesi ve ONOO<sup>-</sup> 'nun, sitotoksik etkisi en potent radikallerden olan OH'ye dekompoze olmasının önlenmesi de yine koruyucudur.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, *E. coli* lipopolisakkaritleri ile indüklenmiş NO üretimini karaciğer iskemi reperfüzyon hasarındaki rolü incelenmiştir (42). İndüklenmiş NO üretimini reperfüzyon sırasında karaciğer hasarını artırdığı görülmüştür. Bu sırada süperoksit miktarındaki artış kemilüminesansta "patlama" ile sonuçlanır. Fakat perfüzyon SOD ilavesinin karaciğer hasarını azaltması beklenirken, yeterince başarılı olmadığı görülmüştür. Bu durum, NO ile O<sub>2</sub><sup>-</sup> reaksiyonunun daha çok hücre içinde meydana gelmesi, SOD'un ise hücre içine az miktarda geçmesi ile açıklanmıştır. NO ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> 'nin neden olduğu doku hasarına ek olarak, ONOO<sup>-</sup> 'nun kendisinin de hasara doğrudan katkısı vardır.

Lefter ve arkadaşları 1997 yılında izole sıçan kalbinde yaptıkları çalışma ile, 20 dakika iskemi, ardından PMNL'ler ile 45 dakikalık reperfüzyon uygulamasında ONOO<sup>-</sup> 'nun rolünü incelemişler (39). 800 nM ONOO<sup>-</sup> 'nun post iskemik kalpde PMNL akümülyasyonunu anlamlı olarak azaltarak, İ/R sırasında miyokard fonksiyonlarında meydana gelen değişiklikleri tamamen normale döndürdüğü görülmüştür. Bu çalışma, ONOO<sup>-</sup> 'nun düşük konsantrasyonlardaki koruyucu etkisine ilişkin bir çalışmadır. Diğer çalışmalarda kullanılan ONOO<sup>-</sup> dozu daha yüksektir ama etki hasarı şiddetlendirici yöndedir.

Daha sonra Yasmin ve arkadaşları izole sıçan kalbinde reperfüzyonun ilk dakikalarında akut ONOO<sup>-</sup> oluşumunu göstermişler (44). Bu çalışmada ONOO<sup>-</sup> 'nun ortamdan uzaklaştırılması reperfüzyon hasarını azaltmıştır. Liu ve arkadaşları da 20 dakika oklüzyon ve 5 saat reperfüzyon uyguladıkları anesteziye sıçanlarda anti-iNOS ve anti-nitrotirozin antikorlarını göstererek, benzer sonuçlara varmışlar (45).

Bizim yaptığımız, İ/R uygulanan anesteziye sıçanlarda aritmi parametrelerinin değerlendirildiği ve tam kan örneklerinde kemilüminometrik ölçümlerin alındığı çalışmada İ/R ile indüklenen NO ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> 'nin reaksiyon ürünü olan ONOO<sup>-</sup> 'nun reperfüzyonun ilk dakikasında arttığı kemilüminometrik olarak teyit edilmiştir (46). ONOO<sup>-</sup> süpürücüsü olarak kullandığımız üratın ONOO<sup>-</sup> 'nun neden olduğu luminol KL sinyallerini

nerdeyse tamamen baskıladığı ve yine aritmi parametrelerinde anlamlı bir iyileştirme oluşturduğu görülmüştür. Yine bu çalışmada egzozen ONOO<sup>-</sup> infüzyonunun İ/R uygulanan anesteziye sıçanda aritmi parametrelerini kötüleştirdiği ve bunların yine ırat ile (L-NAME ve SOD+KAT uygulamasından daha başarılı bir şekilde) geri döndürdüğü kemiluminometre sinyallaerine paralel şekilde gösterilmiştir.

### 7. Solunum Sistemi:

Aktive olmuş alveoler makrofajlar ve tip II epitelial hücreler hem NO, hem O<sub>2</sub><sup>-</sup> 'yi beraber salıverilerek ONOO<sup>-</sup> 'yu oluştururlar (2). İnflamatuar mediyatörlerin neden olduğu hücresele NO ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> oluşumu, akut akciğer hasarı durumunda da ONOO<sup>-</sup> oluşumu ile sonuçlanır (47). Bu çalışmada diffüz alveoler hasarı olan insanlardan alınan akciğer doku örneklerinde, tirozin proteini ile bağlantılı olarak yoğun nitrat formasyonu görülmüştür. Bronkoalveoler lavaj sıvısında yapılan bir başka çalışmanın sonuçlarına göre ise ONOO<sup>-</sup> kendisi (dekompozisyon ürünleri değil), nitrotirozin oluşumuna neden olarak, sürfaktan protein-A'nın lipidlere agregasyonunu azaltır (48). Pulmoner sürfaktan proteinlerde meydana getirdiği hasarın mekanizmasına yönelik çalışmalar, bu hasarın ONOO<sup>-</sup> 'nun SF-A'nın yapısındaki proteinlerin ve lipidlerin peroksidasyonuna bağlı geliştiğini göstermiştir.

Kobaylarda yapılan *in vivo* bir çalışmayla ise, ONOO<sup>-</sup> 'nun epitel hasarı ve inflamasyon mediyatörlerinin salınımına neden olarak, solunum yolunda duyarlılığın artmasına neden olduğu gösterilmiştir (49). Yani NO ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> 'nin reaksiyona girmesiyle NO'ya ait yararlı etkilerinin yok olmasının yanında, ONOO<sup>-</sup> kendisi de neden olduğu epitel hasarı ile solunum yollarının koruyucu bariyerini ortadan kaldırarak, allerjenlerle düz kasın doğrudan temasına yol açar. Bütün bunların dışında ONOO<sup>-</sup> 'nun membran lipidlerinin peroksidasyonunu indükleyerek ve sinyal iletiminde bozukluğa yol açarak (tirozin ve MAPK aktivasyonu ile) da solunum yolları hastalıklarının patogeneğinde rol oynadığını öne sürülmüştür (50).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise solunum yolu hastalıklarında ONOO<sup>-</sup> 'nun dual bir rolü olduğu yönündedir: ONOO<sup>-</sup> bir taraftan solunum yollarında doku hasarı ve inflamasyonda önemli bir mediyatör olarak davranırken, diğer taraftan kimokinler gibi inflamatuvar proteinlerin nitrasyonu ile inflamasyonu azaltıcı yönde rol oynamaktadır (51).

### 8. Santral Sinir Sistemi:

NO bazı spesifik reseptörleri (örneğin NMDA reseptörü) aktive ederek, kortikal, hipokampal, striyal hücrelerin ölümüne neden olur. Spesifik NO sentaz (NOS) inhibitörü 7-nitroindazol ile farelerde yapılan bir çalışma, NO'nun nörotoksik etkisinden, süperoksit ile girdiği reaksiyonunun ürünü olan ONOO<sup>-</sup> 'nun sorumlu olduğunu göstermiştir (8). Bir çok nörolojik modelde ise ONOO<sup>-</sup>, süperoksitten daha toksik değildir (52). Sistein analoglarının ONOO<sup>-</sup> süpürücüsü olarak kullanıldığı bir radyoimmünolojik çalışmanın sonuçlarına göre yine, NO'nun nörotoksitesinde ONOO<sup>-</sup> rol oynamaktadır (53).

Nöron ve astrosit hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada, ONOO<sup>-</sup> 'nun akut uygulanmasının selektif olarak nöronları tahrip ettiği, astrositleri etkilemediği gösterilmiştir (11). Bunda ONOO<sup>-</sup> aracılıklı mitokondriyal hasar rol oynar ve intraselüler glutatyon önemli bir iyileştirici faktördür.

Bugüne kadar yapılan çeşitli çalışmalar ile ONOO<sup>-</sup> 'nun santral sinir sistemi üzerinde önemli etkileri olduğunu gösterilmiştir. ONOO<sup>-</sup> asetil kolin ve  $\gamma$ -aminobütirik asit (GABA) salınımını stimüle ederken, glutamat transport sistemlerini inhibe eder ve apoptozisi indüklediği de bir çok çalışma ile gösterilmiştir. Son yıllarda Ohkuma ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma ile ONOO<sup>-</sup> 'nun serebral kortikal nöronlara cGMP'den bağımsız olarak Ca<sup>2+</sup> girişini artırdığı ve bunda P/Q- ve L-tipi voltaj bağımlı Ca<sup>2+</sup> kanallarının açılmasının rolü olduğu gösterilmiştir (54).

### Sonuç

Peroksinitrit kendisi bir radikal olmamakla birlikte, son derece toksik bir metabolittir ve

dekompozisyon ürünleri olan hidroksil radikali ve nitrojendioksit radikali de potent toksik radikallerdir. Peroksinitritin ya da dekompozisyon ürünlerinin gerek fizyolojik, gerek patolojik bir çok olayda önemli olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (5). Patolojik olaylarda bu radikal ve toksik metabolitlerin diğer serbest radikallerle olan ilişkilerinin de göz önüne alınarak incelenmesi gereklidir ancak bu olayları daha karmaşık hale getirmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci Usa* 1990; 87: 1620-4.
2. Ischiropoulos H, Zhu L, Beckman J S. Peroxynitrite formation from macrophage-derived nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 1992; 298: 446-51.
3. Mccord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase: the first twenty years (1968-1988). *Free Rad Biol Med* 1988; 5: 363-9.
4. Beckman J S, Crow J P. Pathological implications of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite formation. *Biochem Soc Transact* 1993; 21: 330-4.
5. Pryor WA, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am J Physiol* 1995; 268: L699-722.
6. Carreras MC, Pargament GA, Catz SD, Poderoso JJ, Boveris A. Kinetics of nitric oxide and hydrogen peroxide production and formation of peroxynitrite during the respiratory burst of human neutrophils. *Febs Letters* 1994; 341: 65-8.
7. Wei EP, Kontos HA, Beckman JS. Mechanisms of cerebral vasodilation by superoxide, hydrogen peroxide and peroxynitrite. *Am J Physiol* 271 (Heart Circ Physiol 1996; 40): H1262-66.
8. Schulz JB, Matthews RT, Muqit MM, Browne SE, Beal MF. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase by 7-nitroindazole protects against MPTP-induced neurotoxicity in mice. *J Neurochem* 1995; 64: 936-9.
9. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radical and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161: 488-503.
10. Thomson L, Trujillo M, Telleri R, Radi R. Kinetics of cytochrome c2+ oxidation by peroxynitrite: implication for superoxide measurements in nitric oxide-producing biological systems. *Arch Biochem Biophys* 1995; 319(2): 491-7.
11. Bolanos JP, Heales SJ, Land JM, Clark JB. Effect of peroxynitrite on the mitochondrial respiratory chain: differential susceptibility of neurons and astrocytes in primary culture. *J Neurochem* 1995; 64 (5): 1965-72.
12. Sies H, De Groot H. Role of reactive oxygen species in cell toxicity. *Toxicol Letters* 1992; 64/65: 547-51.
13. Radi R, Rodriguez M, Castro L, Telleri R. Inhibition of mitochondrial electron transport by peroxynitrite. *Arch Biochem Biophys* 1994; 308: 89-95.
14. Richter C. Reactive oxygen and nitrogen species regulate mitochondrial Ca<sup>2+</sup> homeostasis and respiration. *Bioscience Reports* 1997; 17(1): 53-66.
15. Denicola A, Rubbo H, Rodriguez D, Radi R. Peroxynitrite-mediated cytotoxicity to *Trypanosoma cruzi*. *Arch Biochem Biophys* 1993; 304: 279-86.
16. Leist M, Fava E, Montecucco C, Nicotera P. Peroxynitrite and nitric oxide donors induce neuronal apoptosis by eliciting autocrine excitotoxicity. *Eur J Neurosci* 1997; 9: 1488-98.
17. Zingarelli B, Cuzzocrea S, Zsengeller Z, Salzman A L, Szabo C. Protection against myocardial ischemia and reperfusion injury by of 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly (ADP-Ribosyl) synthetase. *Cardiovasc Res* 1997; 36: 205-15.
18. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Caputi A.P. Role of peroxynitrite and poly (ADP-ribose) synthetase activation in cardiovascular derangement induced by zymosan in the rat. *Life Sci* 1998; 63(11): 923-33.
19. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Caputi A P. Peroxynitrite-mediated DNA strand breakage activates poly (ADP-ribose) synthetase and causes cellular energy depletion in a nonseptic model induced by zymosan in the rat. *Shock* 1998; 9(5): 336-40.
20. Cuzzocrea S, Costantino G, Caputi A P. Protective effects of melatonin on cellular energy depletion mediated by peroxynitrite and poly (ADP-ribose) synthetase activation in a non-septic shock model induced by zymosan in the rat. *J Pineal Res* 1998; 24: 1-8.
21. Szabo C, Cuzzocrea S, Zingarelli B, O'connor M, Salzman A L. Endothelial dysfunction in a rat model of endotoxic shock. Importance of the activation of poly (ADP-ribose) synthetase by peroxynitrite. *J Clin Invest* 1997; 100(3): 723-35.
22. Szabo C, Dawson VL. Role of poly (ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischaemia-reperfusion. *TiPS* 1998; 19: 287-98.
23. Uchigata Y, Yamamoto H, Nagai H, Okamoto H. Effect of poly (ADP-ribose) synthetase inhibitor administration to rats before and after injection of alloxan and streptozotocin on islet proinsulin synthesis. *Diabetes* 1983; 32(4): 316-8.
24. Graves EJ, Lewis JS, Kooy WN. Peroxynitrite-mediated vasorelaxation: evidence against the formation of circulating S-nitroso thiols. *Am J Physiol* 274 (Heart Circ. Physiol 1998; 43): H1001-8.
25. Kooy NW, Royall JA, Lewis SJ. Peroxynitrite is a vasorelaxant which attenuates catecholamine hemodynamic responses *in vivo*. *Biology Of Nitric Oxide, Part 5*.Eds. J Stamler, S Gross, S Moncada and A E Higgs (Portland Press, London ) P.208.
26. Villa LM, Salas E, Darley-USmar VM, Radomski MW, Moncada S. Peroxynitrite induces both vasodilation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart. *Proc Natl Acad Sci Usa* 1994; 91: 12383-7.
27. Tecder-Ünal M, Tufan H. Comparison the vascular effects of authentic peroxynitrite and SIN-1 in rat thoracic aorta. *Pharmacologist* 2002; 44: 2 (1).



28. Tecder-Ünal M, Tufan H. The vasoactive responses of peroxynitrite in coronary ischemia/reperfusion applied anesthetized rats. *Free Rad Bio Med* 2002; 33 (1): S43.
29. Moro MA, Darley-Usmar VM, Lizasoain I, Su Y, Knowles RG, Radomski MW, Moncada S. The formation of nitric oxide donors from peroxynitrite. *Br J Pharmacol* 1995; 116: 1999-2004.
30. Liu S, Beckman JS, Ku D. Peroxynitrite, a product of superoxide and nitric oxide, produces coronary vasorelaxation in dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 268: 1114-21.
31. Trakranungsie N, Will J A. Comparative vasodilation of peroxynitrite and 3 morpholinonyminine. *Life Sci* 2001; 69 (20): 2349-59.
32. Schulz R, Dodge K L, Lopaschuk G D, Clanachan A S. Peroxynitrite impairs cardiac contractile function by decreasing cardiac efficiency. *Am J Physiol* 1997; 272(41): H1212-9.
33. Zou M-H, Ullrich V. Peroxynitrite formed by simultaneous generation of nitric oxide and superoxide selectively inhibits bovine aortic prostacyclin synthase. *FEBS Letters* 1996; 382:101-4.
34. Förstermann U, Mügge A, Alheid U, Haverich A, Frölich JC. Selective attenuation of endothelium-mediated vasodilation in atherosclerotic human coronary arteries. *Circ Res* 1988; 62(2): 185-90.
35. White C R, Brock T A, Chang L, Crapo J, Briscoe P, Ku D, Bradly W A, Gianturco S H, Gore J, Freeman B A. Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci Usa* 1994; 91: 1044-8.
36. Moro M A, Darley-Usmar V M, Goodwin D A, Read N G, Zamoro-Pino R., Feelisch M, Moncada S. Paradoxical fate and biological action of peroxynitrite on human platelets. *Proc Natl Acad Sci Usa* 1994; 91: 6702-6.
37. Mondoro T H, Shafer B C, Vostal J G. Peroxynitrite-induced tyrosine nitration and phosphorylation in human platelets. *Free Rad Biol Med* 1997; 22(6): 1055-63.
38. Kondo H, Takahashi M, Niki E. Peroxynitrite-induced hemolysis of human erythrocytes and its inhibition by antioxidants. *Febs Letters* 1997; 413: 236-8.
39. Lefer D J, Scalla R, Champbeli B, Nossuli T, Hayward R, Salamon M, Grayson J, Lefer A M. Peroxynitrite inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against ischemia-reperfusion injury in rats. *J Clin Invest* 1997; 99(4): 684-91.
40. Ishida H, Ichimori K, Hirota Y, Fukahori M, Nakazawa H. Peroxynitrite-induced cardiac myocyte injury. *Free Rad Biol Med* 1996; 20(3): 343-50.
41. Digerness SB, Harris KD, Kirklin JW, Urthaler F, Viera L, Beckman JS, Darley-Usmar V. Peroxynitrite irreversibly decreased diastolic and systolic functions in cardiac muscle. *Free Rad Biol Med* 1999; 27: 11/12; 1386-92.
42. Ma TT, Ischiropoulos H, Brass CA. Endotoxin-stimulated nitric oxide production increases injury and reduces rat liver chemiluminescence during reperfusion. *Gasroent* 1995; 108: 463-9.
43. Wang P, Zweier J L. Measurement of nitric oxide and peroxynitrite generation in the postischemic heart. *J Biol Chem* 1996; 271(46): 29223-30.
44. Yasmin W, Strynadka K D, Schulz R. Generation of peroxynitrite contributes to ischemia-reperfusion injury in isolated rat hearts. *Cardiovasc Res* 1997; 33: 422-32.
45. Liu P, Hock CE, Nagele R, Wong PY. Formation of nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Am J Physiol* 1997; 272 (41): H2327-36.
46. Tecder-Ünal M, Çakıcı İ, Demiryürek T, Kanlık İ. The role of peroxynitrite in ischemia-reperfusion arrhythmias in anaesthetized rats. *Eur J Pharmaceu Sci* 1998; 6; 584.
47. Haddad I Y, Pataki G, Hu P, Galliani C, Beckman J S, Malaton S. Quantitation of nitrotyrosine levels in lung sections of patients and animals with acute lung injury. *J Clin Invest* 1994; 94: 2407-13.
48. Haddad I Y, Crow J P, Ye H Y, Beckman J S, Malaton S. Concurrent generation of nitric oxide and superoxide damages surfactant protein A. *Am J Physiol* 1994; 267: L242-9.
49. Sadeghi-Hashhjin G, Folkerts G, Henricks P A J, Verheyen A K C P, Van Der Linde H J, Van Ark I, Coene A, Nijkamp F P. Peroxynitrite induces airway hyperresponsiveness in guinea pigs in vitro and in vivo. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 1697-701.
50. MacNee W. Oxidative stress and lung inflammation in airway disease. *Euro J Pharmacol* 2001; 429: 195-207.
51. Robbins R A, Hadeli K, Nelson D, Sato E, Hoyt J C. Nitric oxide, peroxynitrite, and lower respiratory tract inflammation. *Immunopharmacol* 2000; 48: 217-21.
52. Lafon-Cazal M, Culcasi M, Gaven F, Pietri S, Bockaert J. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: putative mediators of nmda-induced cell death in cerebellar granule cells. *Neuropharmacology* 1993; 32(11): 1259-66.
53. Althaus JS, Oien TT, Fıcı GJ, Scherch HM, Sethhy VH, Von Voigtlander PF. Structure activity relationships of peroxynitrite scavengers an approach to nitric oxide neurotoxicity. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1994; 83 (3): 243-54.
54. Ohkuma S, Katsura M, Higo A, Shirotani K, Hara A, Tarumi C, Ohgi T. Peroxynitrite affects Ca<sup>2+</sup> influx through voltage-dependent calcium channels. *Neurochem* 2001; 76: 341-50.

---

**Geliş Tarihi:** 20.11.2002

**Yazışma Adresi:** Dr.Müge TECDER-ÜNAL  
Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Farmakoloji AD,  
Eskişehir Yolu 20. Km,  
Bağlıca Kampüsü, Bağlıca  
06530 ANKARA  
mugetecder@yahoo.com