

## AKUT VE STABİL KOAH OLGULARINDA OKSİDATİF STRES

Tunçalp DEMİR \*  
Akın AYDEMİR \*\*  
Sema GÜLER \*\*\*  
Emel SERDAROĞLU \*\*  
Melahat KURUTEPE \*\*\*  
Orkide DONMA \*\*  
Nurhayat YILDIRIM \*

### ÖZET

Çalışmamızda kliniğimize başvuran 24 KOAH'lı hasta incelenmiştir. Hastalar klinik ve laboratuvar bulgularına göre 13'ü akut ve 11'i stabil olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Hastaların tümüne başvuru sırasında tam kan sayımı, solunum fonksiyon testleri, karbon monoksit difüzyon testi ve arter kan gazı ölçümleri yapıldı. Ayrıca eş zamanlı olarak tüm hastaların malonildialdehit (MDA), glutatyon (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ölçüldü. Bir lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'yı akut alevlenme dönemindeki hastalarda ( $3.63 \pm 1.2$  nmol/ml), stabil döneme ( $1.52 \pm 0.62$  nmol/ml) göre yüksek bulduk. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0.001$ ). Organizmadaki en önemli antioksidan sistemlerden biri olma özelliğini gösteren SOD enzimi değerlerini ise hem akut ( $896.6 \pm 243$  U/gHb), hem de stabil ( $856.2 \pm 203$  U/gHb) olgularda beklenen değerlerden düşük bulduk. Yine bir antioksidan olan glutatyon düzeyleri ise akut ( $10.02 \pm 2.24$  mmol/L/gHb) ve stabil ( $8.72 \pm 2.54$  mmol/L/gHb) olgularda beklenen değerlerden yüksek idi. Akut olgulardaki değerler stabil olgulardan yüksek ise de bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ). Sonuç olarak artmış oksidatif stres göstergesi olan MDA düzeylerinin ve azalmış antioksidan enzim göstergesi SOD değerlerinin KOAH patogenezinde

oksidan-antioksidan dengesinin önemli olabileceğini gösterdiğini ve bunun da KOAH'daki yeni tedavi arayışları için yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz. **Anahtar Kelimeler:** KOAH, oksidatif stres, malonildialdehit (MDA), glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD)

### SUMMARY

#### OXIDATIVE STRESS IN COPD

We examined 24 patients with COPD. 13 patients were in an acute exacerbation and 11 in the stable state. Routine laboratory tests, malonyledialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) levels were measured in all patients.

MDA, a product of lipid peroxidation, was found to be higher in patients who were suffering from an acute exacerbation of COPD ( $3.63 \pm 1.2$  nmol/ml), when compared those who were in the stable state ( $1.52 \pm 0.62$  nmol/ml). These results were highly significant ( $p < 0.001$ ). The levels of SOD enzyme, which is one of the most important antioxidant systems of the body, were lower than expected in all patients ( $896 \pm 243$  U/gHb in the acute and  $856 \pm 203$  U/gHb in the stable state). GSH levels, in turn, were found to be higher than expected in both groups. The values observed in acute exacerbation were higher than the stable group ( $10.0 \pm 2.2$  mmol/L/gHb;  $8.7 \pm 2.5$  mmol/L/gHb), but this was not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

The high MDA levels as an indicator of climbing oxidative stress and the low SOD levels as an indicator of antioxidant enzyme consumption seems to show the importance of oxidant-antioxidant balance in COPD pathogenesis.

**Key Words :** COPD, oxidative stres, malonyledialdehyde (MDA), glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD)

### GİRİŞ

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) dünyada ve ülkemizde en sık görülen akciğer hastalıklarından biridir. Son yıllarda bir çok hastalıkta olduğu gibi KOAH patogenezinde de oksidatif stresin önemi tartışılmaktadır. KOAH'ın en önemli risk faktörü<sup>1</sup> olan sigara her solukta 10 oksidan içerir ki, bunun 10 kadarı serbest oksidan radikaldır(1). İn vitro çalışmalarda sigara içenlerin akciğerinde alveoler makrofaj ve nötrofil sayıları ile bunlardan salgılanan süperoksit ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi oksidan miktarlarında artış

- 
- \* Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İSTANBUL.  
\*\* Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İSTANBUL.  
\*\*\* Heybeliada Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahi Merkezi, İSTANBUL.

#### Yazışma Adresi:

Dr. Tunçalp DEMİR. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları A.B.D. KMP / İSTANBUL  
Tel: (0212) 588 48 00 / 1294

nötrofillerden oksijen üretiminin arttığı da gösterilmiştir(2). Ayrıca kolonize olan bakteriler de oksidan üretebilirler ve bu da oksidan yükünü artırır (3).

Lipid peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sona ermektedir. Bunlar malonildialdehid (MDA), 4 hidroksinoneal (HNA), alkoller, etan ve pentan gibi ürünlerdir. MDA ve HNA lipid peroksidasyonun göstergesi olarak kullanılan parametrelerdir(4). Süperoksit Dismutaz (SOD) enzimi süperoksit ( $O_2^-$ ) radikalinin, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlayarak hücre içindeki ( $O_2^-$ ) radikal düzeylerini azaltır. Organizmada bir antioksidan olarak görev yapar (3,5).

Glutasyon (GSH), serbest radikallere karşı savunma sisteminin anahtar bileşenidir. Konsantrasyonu ve hücre salıverilme hızı oksidan stresin bir göstergesidir (3,5).

Çalışmamızda KOAH akut alevlenme ve stabil dönemde oksidan-antioksidan dengesinin önemini belirlemek amacıyla oksidan stres göstergesi olarak MDA, antioksidan kapasitenin göstergesi olarak da SOD ve GSH düzeylerini inceledik.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza Eylül 1998- Ocak 1999 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniğine başvuran Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı (KOAH) tanısı almış 24 hasta alınmıştır. Hastalar akut alevlenme ya da stabil dönemde olmalarına göre 2 gruba ayrılmıştır.

ERS konsensus raporuna göre en az 24 saattir öksürük ve soluk darlığında artma, balgamda renk, miktar ve viskozite değişiklikleri, wheezingin ortaya çıkışı ya da şiddetlenmesi, göğüste sıkışma hissi, yorgunluk, efora dayanıksızlık gibi semptomlar, ateş, ödem, solunum frekansında artış ( $>25/dak$ ), nabız sayısında artış ( $>110/dak$ ), siyanoz, yardımcı solunum kaslarının kullanımı, uyuklama gibi klinik bulgular ve FEV1'de düşme ( $<1000ml$ ),  $P_aO_2$ 'de azalma ( $<60mmHg$ ), oksijen saturasyonunda azalma ( $<90$ ),  $P_aCO_2$ 'de artma (45) gibi laboratuvar bulguları saptanan olgular akut alevlenme döneminde olarak değerlendirilmiştir(6).

Stabil gruba alınan hastaların ise en az 3 haftadır klinik ve laboratuvar bulgularında önemli bir değişiklik olmamasına dikkat edilmiştir.

Hastalarımız çalışma öncesinde teofilin, kısa ya da uzun etkili beta-2 agonist ve ipatropium bromürden bir

ya da birkaçını birlikte kullanmakta idiler. Kortikosteroid kullanan olgumuz yoktu.

Akut alevlenme ile gelen olgularda klinik ve laboratuvar incelemeler akut atak tedavisi öncesi yapılmıştır. Hastaların tümünden ayrıntılı anamnez alınarak, P-A akciğer grafisi, solunum fonksiyon testleri, CO difüzyon testi ve arter kah gazı incelemeleri yapıldı. Eş zamanlı olarak tam kan sayımı, SOD,MDA ve GSH ölçümleri için venöz kan alındı.

KOAH'lı hastalarda oluşan lipid peroksidasyonu son ürünü olarak 535 nm'de absorbe edilen sarı-kırmızı renkli bir bileşik oluşturmak üzere tiyobarbutirik asit (TBA) ile reaksiyona giren MDA düzeyleri belirlenerek;(7) antioksidanlardan GSH konsantrasyonu; glutatyondaki sülfidril gruplarının 5'5' dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile oluşturduğu sarı renkli bileşiğin 412 nm'deki absorbansı ölçülerek tayin edildi (8). Ksantin ve ksantin oksidaz etkisiyle oluşturulan süperoksit radikalleri I.N.T ile reaksiyona girerek kırmızı renkli formazon boyayı meydana getirirler. SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibe edilme derecesiyle değerlendirilir. Bu çalışmada SOD aktivitesi bu prensibe uygun olarak hazırlanmış RANSOD SD 125 kiti kullanılarak belirlenmiştir (9).

### İstatistiksel değerlendirme:

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Student-t testi (denek sayısının az olmasına karşın varyans analizi yapılarak), değerler arasındaki ilişkinin incelenmesinde ise Pearson korelasyon testi uygulanmıştır.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan akut alevlenme dönemindeki 13 olgudan 12'si erkek 1'i kadın, stabil dönemdeki 11 olgunun ise tümü erkek idi. Akut dönemdeki olguların yaş ortalamaları  $66\pm 8$ , hastalık süreleri ortalama  $11.2\pm 6.3$  yıl, sigara kullanımları ise  $45.7\pm 21.5$  paket/yıl iken stabil dönemdeki olguların yaş ortalamaları  $59\pm 5.9$ , hastalık süreleri  $8.2\pm 5.9$  yıl, sigara kullanımları ise  $39\pm 4.2$  paket/yıl idi. Yaş, hastalık süreleri ve sigara kullanımları açısından her iki grup arasında anlamlı fark yoktu (Tablo I).

Tablo I: Olguların genel özellikleri.

	Akut	Stabil	
Olgu	13 (12E, 1K)	11 (11E)	$p>0.05$
Yaş ortalaması	$66 \pm 8$	$59 \pm 5.9$	$p>0.05$
Hastalık Süresi (yıl)	$11.2 \pm 6.3$	$8.2 \pm 5.9$	$p>0.05$
Sigara (paket/yıl)	$45.7 \pm 21.5$	$39 \pm 4.2$	$p>0.05$

Akut alevlenme dönemindeki olguların lökosit sayısı

9123±2876/mm<sup>3</sup>, stabil dönemdeki olguların ise 7036±1372/mm<sup>3</sup> idi. İki grup arasında anlamlı fark vardı (p<0.001). Olguların hematokrit ve hemoglobin düzeyleri arasında ise anlamlı fark yoktu (Tablo II). Olguların arter kan gazlarına baktığımız zaman ise; akut alevlenme dönemindeki olguların P<sub>a</sub>O<sub>2</sub> değerleri stabil dönemdekilerden daha düşük ve P<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> değerleri ise daha yüksek olmasına karşın arada istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Solunum fonksiyon testlerinden FEV1 düzeyleri arasında ise anlamlı fark vardı (p<0.01). CO difüzyon testi değerleri her ne kadar akut dönemdeki olgularda daha düşük isede arada anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo II).

**Tablo II:** Olguların laboratuvar bulguları.

	Akut	Stabil
Lökosit (mm <sup>3</sup> )	9123±2876	7036±1372*
Htc (%)	42.2±5.1	44.3±4.5
Hb (gr/dl)	14.2±1.4	14.5±1.5
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	65±13.1	76.5±13
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	42.6±9.3	37.4±5.2
FEV1 (ml)	907±501	1682±637*
FEV1 (%)	36±15.2	55.8±17.6
FVC (%)	58.3±15.1	78.9±16.3
FEV1/FVC (%)	47.6±10.1	55.1±9.2
FEF25-75 (%)	15.9±7.6	25±9.8
DLCO (%)	56±26	68.5±26
DLCO/VA (%)	62±24.9	67.4±11.7

\*p<0.001

Akut alevlenme dönemindeki olguların MDA düzeyleri ortalama 3.63±1.2 nmol/ml, stabil dönemdeki olguların MDA düzeyleri ortalama 1.52±0.62nmol/ml olarak bulunmuştur. İki grup arasında anlamlı fark vardı (p<0.001).

Normal GSH düzeyleri mmol/L/gHb iken akut dönemdeki olgularımızın değerleri 10.02±2.15mmol/L/gHb ve stabil dönemdeki olgularımızın değerleri ise 8.72±2.41 mmol/L/gHb ile normalden yüksek idi. Yine akut dönemdeki olguların GSH düzeyleri stabil dönemdekilerden yüksek olmasına karşın aradaki fark anlamlı değildi.

Yine normal SOD değerleri 1102-1601 U/gHb iken akut alevlenme dönemindeki olgularımızda 896±243 U/gHb ve stabil dönemdeki olgularımızda 856±203 U/gHb olarak ölçülmüştür. İki grupta da SOD değerleri normalden düşük iken iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu (Tablo III).

**Tablo III:** Olguların MDA,SOD ve GSH düzeyleri.

	Akut	Stabil	
MDA (nmol/ml)	3.63±1.2	1.52±0.62	p<0.001
GSH (mmol/L/gHb)	10.2±2.15	8.72±2.41	p>0.05
SOD (U/gHb)	896±243	856±203	p>0.05

## TARTIŞMA

KOAH patogenezinde oksidanların yeri son yıllarda gittikçe artarak tartışılmaktadır. Bunun en önemli çıkış noktası da KOAH etyolojisindeki en önemli faktör olan sigaranın çok miktarda reaktif oksidan radikalleri içermesidir (10). Her bir sigarada 10<sup>14</sup> reaktif oksidan radikali olduğu saptanmıştır (1).

Taylor ve arkadaşları 1986 yılında plazma antioksidan aktivitesindeki azalma ile FEV1/FVC oranındaki düşüş arasında güçlü bir ilişki saptamışlardır (11). Dekhuijen ve arkadaşları ise KOAH'lı hastaların her solukta normalden daha fazla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çıkardıklarını, akut alevlenmede H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının daha da arttığını göstermişler ve bu sonuca göre KOAH'lı hastalarda akciğerlerdeki inflamasyonla birlikte reaktif oksijen radikallerinin artışına bağlı olarak oksidatif stresin arttığını savlamışlardır (12).

GSH; bir antioksidan olup serbest radikallere karşı savunma sisteminin anahtar bileşenidir ve glutatyon peroksidazın iki substratından biridir. Hayvan çalışmalarının da gösterdiği gibi artmış oksidan strete glutatyon düzeyleri de artmaktadır. Yine farelerde azalmış glutatyon düzeylerinde oksijene bağlı akciğer hasarının çok daha fazla olduğunu ileri sürmüştür (13). Bazı çalışmalarda glutatyon peroksidazın astmalılarda azalmış olduğu gösterilmesine karşın Smith ve arkadaşları hafif astımlı hastaların BAL sıvılarında glutatyon düzeylerini artmış olarak bulmuşlardır. Bunu da organizmanın oksidatif strese karşı bir yanıtı olarak değerlendirmişlerdir (13). KOAH'lıların bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvılarında da E vitamini değerleri düşük bulunmasına karşın glutatyon düzeyleri artmış olarak saptanmıştır (14).

Biz de çalışmamızda glutatyon düzeylerini hem akut hem stabil KOAH olgularında normalin üzerinde bulduk. Her ne kadar akut alevlenme dönemindeki KOAH'lıların glutatyon düzeyleri stabil olgulara göre daha yüksek düzeyde ise de aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

SOD enzimi süperoksit radikalinin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlayarak hücre içindeki süperoksit düzeylerini azaltır ve böylece

antioksidan özellik gösterir. SOD, katalaz ve glutatyon redoks sistemi ile birlikte organizmadaki en önemli antioksidan sistemlerden biridir (3). SOD ölçümü organizmanın antioksidan kapasitesi hakkında fikir verebilir. Rahman ve arkadaşları KOAH ve astım olgularında TEAC (plasma Trolox equivalent antioxidant capacity) düzeylerini normalden düşük bulmuşlardır. Akut ataktaki KOAH ve astımlılarda ise bu düşüş çok daha belirgindir. Stabil KOAH'taki düşüş ise kontrol grubundan anlamlı olarak farklı bulunmamıştır. Yine sigara içenlerde de TEAC düzeyleri içmeyenlerden anlamlı olarak düşük bulunmuştur (15). Di Silvestro ise sigara içenlerin BAL sıvısındaki SOD düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulmuştur (16). Biz de çalışmamızda SOD düzeylerini hem akut hem de stabil olgularda normal değerlerden düşük bulduk. Akut KOAH'lılarda SOD düzeyleri, stabil olgulardan hafif yüksek bulunsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu sonuçlar KOAH'lı olgularda antioksidan mekanizmalarda bir azalma olduğunu düşündürmektedir.

Organizmada lipid peroksidasyonun en önemli göstergelerinden biri MDA'dır. MDA değerlerinin yüksekliği organizmadaki oksidan stresin arttığını gösterir. Lipid peroksidasyonu doku ve organlarda membran fonksiyonlarını bozarak membrana bağlı reseptör ve enzimleri inaktive ederek ve membran geçirgenliğini artırarak bir çok hastalığın patogenezinde rol alabilir (3,7). Petruzelli ve arkadaşları lipid peroksidasyon ürünleri ile KOAH'lılarda küçük hava yolu obstrüksiyonu arasında ters ilişki bulmuşlardır (17). Rahman ve arkadaşları ise yaptıkları iki farklı çalışmada KOAH akut alevlenme döneminde MDA düzeylerini stabil döneme göre daha yüksek bulmuşlardır (15, 10). Biz de çalışmamızda MDA düzeylerini akut alevlenme döneminde stabil döneme göre daha yüksek bulduk. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p < 0.001$ ). Bu sonuçlar KOAH'lılarda özellikle akut alevlenme dönemlerinde oksidatif stresin arttığını göstermektedir.

Yine KOAH'lıların akut alevlenme dönemlerinde kan nötrofillerinden  $O_2^-$  salınımının arttığı ve enfeksiyon sonrası bunun eski değerine döndüğü gösterilmiştir (2). Yapılan tüm balgam, bronkoskopik biyopsi ve lavaj çalışmaları KOAH'ın oluşmasında inflamasyonun önemini göstermiştir. Bu çalışmaların sonucunda KOAH'taki en önemli inflamatuvar hücrelerin nötrofiller ve alveoler makrofajlar olduğu, ancak eozinofiller, lenfositler ve diğer hücrelerin de önemli olabileceği söylenmiştir (3). Sigara içenlerde de alveoler makrofajların 2-4 kat, nötrofillerin 10 kat arttığı BAL çalışmaları ile gösterilmiştir. İnterleukin 8 (IL8), nötrofiller

için potent kemotaksindir ve KOAH'lılarda balgamda IL-8 düzeyi kontrol gruplarına oranla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu sonuç da KOAH'ta ki nötrofil artışının bir göstergesidir (18). Sigara içenlerin, astmatiklerin ve KOAH'lıların periferik kan lökositleri, artmış oksidan yüke sahiptirler (15). Benzer şekilde pasif sigara içicilerde de periferik lökosit sayısının ve lökositlerden salgılanan oksidan miktarının arttığı gösterilmiştir (19). Akut alevlenme dönemindeki KOAH'lı olgularımızın lökosit sayısının stabil olgulardan anlamlı derecede yüksek oluşu ( $p < 0.001$ ), artan oksidatif stresin kaynağının lökositler olabileceğini düşündürmektedir. Bu da KOAH'lılarda enfeksiyonların zamanında ve yeterli tedavisinin hastalığın progresyonu üzerine önemini göstermektedir.

Sonuç olarak akut KOAH olgularında MDA düzeylerinin yüksek olması, hem stabil hem akut olgularda GSH düzeylerinin artmış, SOD düzeylerinin düşük bulunması nedeniyle KOAH patogenezinde oksidan-antioksidan dengesinin önemli olabileceğini ve oksidan stresin kaynağının da artmış lökositler olabileceğini düşünmekteyiz.

#### KAYNAKLAR

1. Senior RM, Shapiro SD. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Epidemiology, Pathophysiology and Pathogenesis. In: Fishman AP (Ed) Fishman's Pulmonary Disease and Disorders. 3 th , New York: Mc Graw Hill 1998: 659-681.
2. Riise GC, Larsson S, Andersson BA. Bacterial adhesion to oropharyngeal and bronchial epithelial cells in smokers with chronic bronchitis, smaller with COPD and healthy nonsmokers. Eur Respir J 1994; 7: 1759-1764.
3. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. Am J Respir Crit Care Med 1997; 156: 341-357.
4. Hallwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. Am J Clin Nutr 1993; 57(Suppl): 715s-725s.
5. Helmut S. Oxidative stress: From basic research to clinical application. Am J Med 1991; 91(Suppl): 31s-34s.
6. ERS- Consensus Statement: Siafakas NM et al. Optimal assesment and management of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Eur Respir J 1995; 8: 1398-1420.
7. Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. Chem

7. Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. *Chem Phys Lipids* 1987; 45: 337-351.
8. Beutler E, Duran O, Kelly MB. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-888.
9. Ransod Superoxide Dismutase. Cat.No:SD 125. Randox.
10. Rahman I, Skwarska E, Mac Nee W. Attenuation of oxidant/ antioxidant imbalance during treatment of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1997; 52: 565-568.
11. Taylor JC, Madison R, Kosinska D. Is antioxidant deficiency related to chronic obstructive pulmonary disease? *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 285-289.
12. Dekhuijzen PNR, Aben KH, Dekker AI et al. Increased exhalation of hydrogen peroxide in COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 813-816.
13. Smith L, Michael H, Anderson J. Increased levels of glutathione in bronchoalveolar lavage fluid from patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 1461-1464.
14. Cantin A, North L, Hubbard R, Crystal R. Normal alveolar epithelial lining fluid contains high levels of glutathione. *J Appl Physiol* 1987; 63: 152-157.
15. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1055-1060.
16. Di Silvestro R, Pacht Davis B, Jarjour N, Joung H, Trella-Fulop K. BAL fluid contains detectable superoxide dismutase 1 activity. *Chest* 1998; 113: 401-404.
17. Bridges AB, Scott NA, Parry G, Belch JFF. Age, sex, cigarette smoking and indices of free radical activity in healthy humans. *Eur J Med* 1996; 2: 205-208.
18. Yamamoto C, Yoneda T, Yoshikawa M, Fu A et al. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease is mediated by interleukin-8. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 821.
19. Anderson R, Theron AJ, Richards A, Myers MS and Rensburry AJV. Passive smoking by humans sensitizes circulating neutrophils. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 570-574.