

KAJIAN PERAN MANGANESE-CONTAINING SUPER OXIDE DISMUTASE (MNSOD) DALAM REGULASI EKSPRESI *HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1 α* (HIF-1 α) PADA KEADAAN HIPOKSIA

ROLE OF MANGANESE-CONTAINING SUPER OXIDE DISMUTASE (MNSOD) IN REGULATION OF EXPRESSION *HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1A* (HIF-1A) ON HYPOXIA

Masagus Zainuri*, Lutfah Rif'ati

Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kementerian Kesehatan RI, Jl. Percetakan Negara No. 29 Jakarta Pusat, Indonesia

* Korespondensi penulis: masagus_zainuria@yahoo.com

Submitted : 14-03-2013; Revised : 04-09-2013; Accepted : 13-11-2013

Abstrak

Kekurangan suplai oksigen pada jaringan disebut hipoksia. Sel tumor sering mengalami hipoksia dan menjadi tidak responsif terhadap terapi. Keadaan hipoksia pada jaringan tumor perlu ditanggulangi agar keberhasilan terapi tumor dapat ditingkatkan. Pada keadaan hipoksia, factor Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) berperan penting dalam pengendalian respon seluler. Ekspresi gen HIF-1 α sangat dipengaruhi oleh status redoks sel. Enzim MnSOD merupakan enzim antioksidan endogen yang berperan sebagai scavenger $O_2^{\cdot-}$ yang menghasilkan H_2O_2 dan O_2 , sehingga aktivitas MnSOD akan mempengaruhi status redoks dari sel. Melalui $O_2^{\cdot-}$ dan H_2O_2 , MnSOD memiliki peran biphasic terhadap regulasi ekspresi gen HIF-1 α , sehingga dapat menekan dampak hipoksia pada jaringan. Sampai saat ini MnSOD belum dimanfaatkan sebagai terapi pendukung pada terapi tumor dan perlu dilakukan banyak eksperimen untuk mengeksplorasi potensi MnSOD sebagai terapi adjuvant alternative untuk terapi tumor.

Kata Kunci : MnSOD, HIF-1 α , Superoksida ($O_2^{\cdot-}$), Hidrogen Peroksida (H_2O_2)

Abstract

Insufficient oxygen supply in tissue is named hypoxia. Tumor cells frequently experience tissue hypoxia, therefore it becomes irresponsive to the main therapy. Hypoxia of tumor tissue needs to be solved to improve the tumor therapy succeed. In hypoxia, Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) plays an essential role in controlling the cellular responses. HIF-1 α gene expression is influenced by the redox state of the cells. MnSOD enzyme is an endogenous antioxidant enzyme that acting as an $O_2^{\cdot-}$ scavenger that producing H_2O_2 and O_2 , so that MnSOD activity would affect the redox state of the cells. Via $O_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 , MnSOD has a biphasic role for gene expression of HIF-1 α regulation and reducing the tissue hypoxia effect. Recently, MnSOD is not an adjuvant therapy for tumor treatment yet, and some experiments are needed to explore MnSOD potential as an alternative adjuvant therapy for tumor treatment.

Keywords : MnSOD, HIF-1 α , Superoxide ($O_2^{\cdot-}$), Hydrogen Peroxide (H_2O_2)

Pendahuluan

Hipoksia adalah suatu keadaan dimana konsentrasi oksigen dalam sel sangat rendah. Keadaan hipoksia pada sel tumor disebabkan tingginya konsumsi oksigen akibat tingkat proliferasi yang sangat cepat dari sel tersebut, tidak adekuatnya aliran darah ke jaringan akibat kerusakan fungsi dan struktur jaringan vaskular, bertambahnya jarak difusi akibat ekspansi sel tumor serta berkurangnya

kemampuan darah dalam mengangkut oksigen.¹ Beberapa penelitian menyebutkan bahwa keadaan hipoksia pada sel tumor berhubungan dengan tingkat progresifitas proliferasi, peningkatan metastasis, prognosis buruk, dan resistensi sel tumor tersebut terhadap terapi.^{2,3} Konsep bahwa hipoksia intra-tumor dapat memicu terjadinya keganasan (kanker) juga telah banyak diketahui sejak beberapa dekade terakhir.⁴

Pada keadaan hipoksia, protein *Hypoxia Inducible Factor-1 α* (HIF-1 α) berperan penting mengendalikan respon selular dan akan mengalami dimerisasi dengan HIF-1 β , membentuk faktor transkripsi HIF-1. Faktor transkripsi HIF akan terikat pada *hypoxia responsive element* (HREs) dalam promotor gen. Hal tersebut akan menginisiasi proses ekspresi gen yang responsif terhadap hipoksia, seperti gen *Vascular endothelial growth factor* (VEGF), *Erythropoietin* (Epo), dan lain-lain.⁵ Salah satu peran HIF-1 adalah mengaktivasi transkripsi gen-gen yang sangat krusial dalam terbentuknya kanker, termasuk terjadinya angiogenesis, metabolisme glukosa, dan invasi sel-sel kanker. Menimbang pentingnya peran HIF-1 pada patofisiologi kanker, maka beberapa penelitian dilakukan dalam upaya menghambat terbentuknya HIF-1 dan diyakini bahwa obat yang dapat menghambat HIF-1 berpotensi sebagai obat anti kanker.⁶

Pada keadaan hipoksia juga terjadi peningkatan kadar *reactive oxygen species* (ROS). Saat ini, terdapat peningkatan perhatian pada fenomena *ROS-dependent* dalam regulasi aktivitas protein HIF-1 α .⁷ Mitokondria merupakan tempat produksi ROS. Mitokondria berperan sebagai sensor untuk aktivasi HIF-1 α .^{7,8} Mekanisme sensor O₂ dan proses *signaling* dari ROS terhadap aktivasi protein HIF-1 α memiliki jalur yang bermacam-macam pada sel yang berbeda-beda. Sampai saat ini belum ada kesepakatan pakar tentang mekanisme utama regulasi HIF-1 α oleh ROS.⁹ Salah satu mekanisme regulasi HIF-1 α oleh ROS adalah melalui perubahan status redoks dari sel. Pada metabolisme normal, radikal bebas anion superoksida (O₂⁻) diproduksi sebagai hasil dari rantai transfer elektron di mitokondria. Enzim MnSOD adalah antioksidan endogen yang terletak pada matriks mitokondria eukariotik dan merupakan antioksidan primer yang pertama kali berhadapan dengan radikal bebas, seperti O₂⁻.¹⁰

Enzim MnSOD termasuk salah satu enzim superoksida dismutase (SOD) yang berfungsi mengkonversi O₂⁻ yang terbentuk, menjadi hidrogen peroksida (H₂O₂) dan oksigen (O₂). Perubahan pada aktivitas MnSOD akan menyebabkan perubahan status redoks sel, yang pada akhirnya akan mempengaruhi ekspresi gen. Salah satu gen yang ekspresinya dipengaruhi oleh status redoks dalam sel adalah gen HIF-1 α .^{8,11} Kajian ini akan membahas mengenai peran *biphasic* MnSOD terhadap regulasi ekspresi gen HIF-1 α . Kajian ini bermanfaat sebagai masukan untuk mengetahui cara

mengendalikan respon selular terhadap hipoksia pada sel tumor, sehingga dapat dijadikan dasar sebagai terapi pendukung.

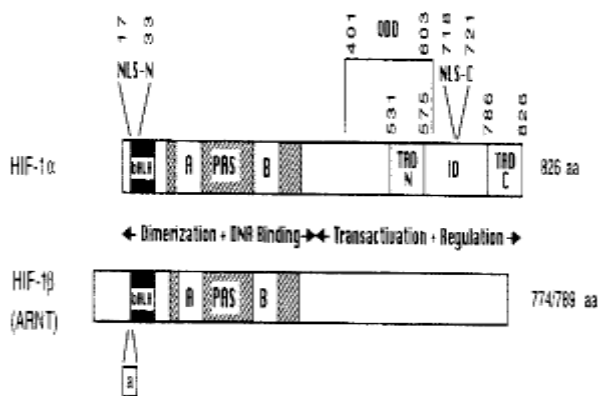
Metode

Metode yang digunakan adalah telaah referensi dari berbagai artikel yang berisi mengenai peran MnSOD terhadap regulasi ekspresi gen HIF-1 α pada berbagai jenis tumor.

Hasil

Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) dan *Reactive Oxygen Species*(ROS)

Senyawa HIF-1 dapat dipurifikasi dengan menggunakan metode kromatografi pertukaran ion dan kromatografi afinitas, HIF-1 terdiri dari dua subunit HIF-1 α dan HIF-1 β , yang masing-masing mempunyai berat molekul rata 120-130kD dan 91-94kD. Pada penelitian purifikasi HIF-1 α dan HIF-1 β , Polipeptida HIF-1 α dan HIF-1 β dapat dipotong dengan enzim tripsin, kemudian dilakukan fraksinasi dengan metode HPLC, dan masing-masing fraksi dilakukan *microsequencing* serta analisis nukleotida pada sekuensnya. Hasil analisis menunjukkan bahwa kedua subunit mengandung 2 domain, yaitu domain *basic helix-loop-helix*(bHLH) dan domain PAS (akronim dari PER, ARNT, dan SIM, yang merupakan 3 protein pertama yang diidentifikasi memiliki motif domain tersebut). Domain bHLH berfungsi untuk dimerisasi dan tempat perlekatan DNA sejumlah besar faktor transkripsi. Domain PAS juga berperan pada dimerisasi.^{5,12} Senyawa HIF-1 α mengandung 826 asam amino. Dua domain transaktivasi, yaitu N-terminal dan C-terminal TAD berada pada lokasi asam amino 533-575 dan 786-826. Selain itu, N-terminal juga mengandung domain yang berperan dalam mendegradasi HIF-1 α pada kondisi normoksia (kondisi O₂ normal), yaitu *oxygen-dependent degradation domain* (ODD pada aa 401-603). Domain ini mengandung dua *PEST-like motifs* yaitu sekuens yang kaya akan prolin (P), asam glutamat (E), serin (S), dan treonin (T) pada posisi asam amino 499-518 dan 581-600, serta merupakan bagian yang umum ditemukan pada protein dengan waktu paruh yang pendek (kurang dari 2 jam). Waktu paruh HIF-1 α pada kondisi normoksia adalah kurang dari 10 menit, sehingga proteinnya sangat sulit dideteksi. Senyawa HIF-1 α juga mengandung dua *nuclear localization signal*, yaitu N-NLS (aa 17-74) dan C-NLS (aa 718-721).¹³



Gambar 1. Anatomi dari HIF-1.^{5,12}

Pada keadaan normoksia, HIF-1 α akan terdegradasi dan mengalami ubiquitinilasi sebelum didegradasi oleh proteasome. Untuk terjadinya ubiquitinilasi, diperlukan hidroksilasi residu prolin dari HIF-1 α oleh enzim *prolylhydroxylase*, yang membutuhkan oksigen atau Fe²⁺ sebagai kofaktor untuk aktivasinya.^{5,7} Pada keadaan hipoksia, dimana level oksigen sangat rendah, HIF-1 α akan menjadi stabil dan akan mengalami dimerisasi dengan HIF-1 β , lalu membentuk faktor transkripsi HIF-1 yang akan terikat pada *hypoxia responsive element* (HREs) dalam promoter gen. Senyawa HIF-1 akan menginisiasi terjadinya proses ekspresi beberapa gen, antara lain VEGF dan Epo.^{5,12}

Pada keadaan hipoksiakadar ROS akan meningkat. Beberapa ROS seperti O₂, H₂O₂, OH⁻ yang dihasilkan selama metabolisme aerobik normal diketahui berperan sebagai molekul sinyal yang menginduksi berbagai proses biologis, seperti stimulasi protein fosforilasi, Ca²⁺-signaling, hidrolisis fosfolipid, dan aktivasi faktor transkripsi.^{5,14} Saat ini, terdapat peningkatan perhatian yang tertuju pada fenomena regulasi ROS-dependent dari aktivitas protein HIF-1 α .⁷ Hamanaka menyatakan H₂O₂ eksogen yang diberikan dalam keadaan normoksia menstabilkan protein HIF-1 α , sementara itu hipoksia pada sel Hep3B dan pemberian antimycin A akan meningkatkan pembentukan ROS pada kompleks III di mitokondria dan stabilisasi HIF-1 α , respon seperti ini tidak tampak pada sel yang mitokondrianya mengalami mutasi. Pada penelitian lain disebutkan bahwa ROS yang dihasilkan selama hipoksia akan mengaktifasi *mitogen activated protein kinase pathway* (MAPK) yang akan memberikan sinyal untuk pengaktifan HIF-1 α .¹⁵ Ekspresi protein HIF-1 α tampaknya peka terhadap perubahan kecepatan

sintesis karena masa paruhnya yang sangat pendek pada keadaan non-hipoksia.¹⁶

Pengaturan *Biphasic* MnSOD Terhadap Ekspresi Gen HIF-1 α

Enzim MnSOD adalah enzim antioksidan endogen yang terletak pada matriks mitokondria eukariotik dan merupakan antioksidan primer yang pertama kali berhadapan dengan radikal bebas. Pada metabolisme normal O₂⁻ diproduksi sebagai hasil dari rantai transfer elektron di mitokondria dan dapat menyebabkan kerusakan sel. Enzim MnSOD berperan untuk mengkonversi O₂⁻ yang terbentuk menjadi H₂O₂ dan O₂.¹⁷ Gen MnSOD terletak di kromosom 6 (6q25.3) dan disebut juga sebagai SOD2. Gen MnSOD merupakan *single copy* yang terdiri dari 5 ekson dan 4 intron. Induksi dari gen ini dipengaruhi oleh karakteristik yang unik yakni promoter mengandung sedikit TATA dan memiliki elemen enhancer intron. Ekspresi gen diatur oleh promoter yang kaya sekuens GC yang mengandung situs pengikatan *protein specific 1* (PS1).^{18,19} Aktivitas MnSOD akan meningkat jika terbentuk O₂⁻ yang tinggi (*inducible enzyme*).^{11,20}

Penelitian yang dilakukan Wang melaporkan bahwa MnSOD konsentrasi rendah (oksigen 1% dan 4%) meningkatkan akumulasi protein HIF-1 α pada sel karsinoma payudara dengan.²¹ Penelitian ini sejalan dengan penelitian Jetawattana yang menggunakan siRNA MnSOD untuk menekan aktivitas MnSOD pada sel MCF-7. Penekanan aktivitas MnSOD pada sel MCF-7 ini mengakibatkan akumulasi protein HIF-1 α .⁹ DeArmond juga melaporkan hasil penelitian yang serupa, menggunakan sel karsinoma skuamosa yang diberi perlakuan hipoksia dengan oksigen 1% selama 4 jam yang kemudian dipelihara dalam kondisi normoksia (oksigen 21%). Hasil penelitian deArmond, pada sel karsinoma skuamosa terjadi penurunan konsentrasi MnSOD dan sejalan dengan itu terjadi akumulasi protein HIF-1 α .²² Hasil yang berbeda didapat apabila konsentrasi MnSOD meningkat. DeArmond juga melaporkan apabila sel karsinoma skuamosa tersebut diberikan MnSOD, maka akan terjadi penurunan akumulasi HIF-1 α .²² Wang melaporkan pada MnSOD konsentrasi sedang (peningkatan 2-6 kali lipat) terjadi penurunan akumulasi protein HIF-1 α . Peningkatan kadar MnSOD juga menurunkan ekspresi gen VEGF, suatu gen yang ekspresinya dikontrol oleh HIF-1 α .²¹ Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Habib²³ dan Brune²⁴ yang

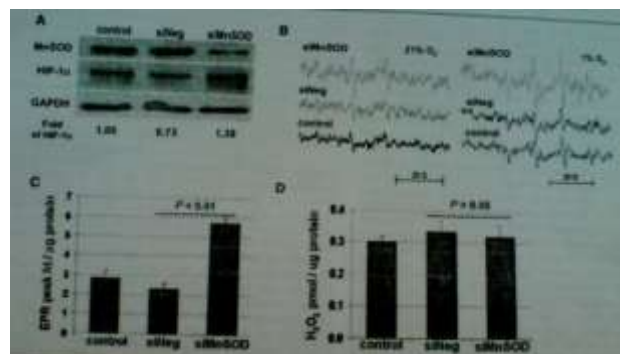
menyebutkan pemberian *nitric oxide* (NO) dengan konsentrasi sedang akan menurunkan jumlah HIF-1 α , hal ini disebabkan NO dapat bereaksi dengan O₂⁻, sehingga akan menyebabkan penurunan jumlah O₂⁻. Hal serupa terjadi juga pada pemberian MnSOD dengan konsentrasi sedang. Fenomena *biphasic* terlihat ketika dilakukan pemberian MnSOD dengan kadar tinggi pada sel tumor, penelitian yang dilakukan oleh Wang,⁹ Jetta-wattana²¹, deArmond²², dan Fijalkowska²⁵, melaporkan terjadinya akumulasi HIF-1 α kembali pada keadaan overekspresi MnSOD atau dengan pemberian MnSOD konsentrasi tinggi.

Mekanisme *Biphasic* MnSOD Terhadap Regulasi Ekspresi Gen HIF-1 α

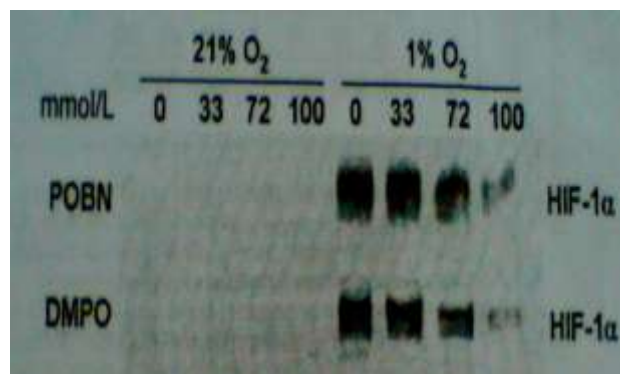
Prolylhydroxylase adalah enzim yang mengandung zat besi, sebagai pusat penginderaan oksigen dan reaksi hidroksilasi. Unsur besi memiliki ikatan sangat lemah dengan dua histidine dan kelompok karboksilat (Asp atau Glu) dari protein *prolylhydroxylase*. Tiga situs yang tersisa berikatan dengan α -keto-glutarate dan dioksigen, ikatan ini bersifat sementara. Selama reaksi katalitik, oksigen mengalami reduksi, dua elektron berasal dari α -keto-glutarate dan dua elektron lagi berasal dari *proline*. Ikatan yg lemah antara *prolylhydroxylase* dan Fe²⁺ menyebabkan *prolylhydroxylase* lebih mudah berikatan dengan O₂⁻, disamping itu Fe(IV) yang terbentuk selama reaksi katalitik sangat rentan terhadap agen pereduksi, seperti O₂⁻. Pada keadaan hipoksia atau penurunan aktivitas MnSOD, jumlah O₂⁻ yang terbentuk akan sangat banyak. Unsur Fe (IV) dapat bereaksi dengan O₂⁻ menghasilkan Fe³⁺, hal tersebut menjadikan enzim *prolylhydroxylase* tidak aktif dan terjadilah akumulasi HIF-1 α .²⁶

Penelitian yang dilakukan Kaewpilla mencoba membuktikan pengaturan *biphasic* dari MnSOD melalui O₂⁻ dengan melakukan manipulasi kadar MnSOD pada sel kanker payudara menggunakan *specific RNA interference*. Penekanan kadar MnSOD oleh siRNA MnSOD bergantung pada variabel waktu dan konsentrasinya. Penekanan kadar MnSOD terjadi 24 jam setelah transfeksi dan mencapai penekanan maksimal setelah 72 jam. Setelah pemberian siRNA MnSOD ternyata terjadi peningkatan akumulasi dari HIF-1 α . Penurunan kadar MnSOD diikuti dengan peningkatan kadar O₂⁻ sebagai substrat dari MnSOD. Peningkatan akumulasi protein HIF-1 α ketika kadar MnSOD menurun memperkuat dugaan bahwa O₂⁻ berperan dalam regulasi HIF-1 α . Pada

kadar MnSOD sedang, terjadi peningkatan aktivitas MnSOD, akibatnya terjadi penurunan O₂⁻. Oleh karena itu percobaan selanjutnya dilakukan penurunan kadar O₂⁻ dengan menggunakan *spin trapping agent* POBN atau DMPO, ternyata penurunan kadar superoksida menyebabkan terjadinya penurunan kadar HIF-1 α . Data dari percobaan *spin trapping* tersebut dapat disimpulkan bahwa MnSOD dapat meregulasi akumulasi dari protein HIF-1 α melalui pengaturan superoksida.²⁷



Gambar 3. Penekanan MnSOD dengan menggunakan siRNA MnSOD menyebabkan peningkatan HIF-1 α , dari gambar D terlihat tidak ada perubahan kadar H₂O₂ pada kelompok kontrol maupun perlakuan hal ini menunjukkan bahwa H₂O₂ tidak berperan dalam regulasi HIF-1 α .²⁷



Gambar 4. Peningkatan spin trapping agent (POBN dan DMPO) akan menurunkan kadar O₂⁻ yang akan berakibat pada menurunnya ekspresi HIF-1 α .²⁷

Pada pemberian MnSOD kadar tinggi, diatas kadar O₂⁻ yang terbentuk dalam keadaan hipoksia, H₂O₂ mengambil peran dalam meregulasi HIF-1 α . Pada keadaan kadar MnSOD yang tinggi, akan dihasilkan H₂O₂ yang tinggi, H₂O₂ akan mengoksidasi Fe²⁺, sehingga akan mengurangi ketersediaan Fe²⁺ sebagai kofaktor *prolylhydroxylase* dan akibatnya, aktivitas *prolyl-*

hidroxylase akan menurun diikuti stabilisasi protein HIF-1 α .^{26,28,29}

Pembahasan

Hipoksia pada massa tumor memicu terjadinya kerusakan atau nekrotisasi jaringan dan pada tahap lanjut dapat menginisiasi perubahan sifat neoplastis dari jinak menuju keganasan. Keberhasilan terapi tumor ganas sangat dipengaruhi jenis dan sifat biologis serta genetika sel, lokasi dan stadium kanker, serta respon individual penderita terhadap jenis pengobatan terpilih. Beberapa keadaan tumor ganas dalam keadaan hipoksia bersifat kurang responsif terhadap terapi definitif, sehingga perlu dipikirkan alternatif pemberian terapi ajuvan untuk meningkatkan keberhasilan terapi.

Peran HIF-1 α dalam pembentukan HIF-1 yang bersifat stimulatif terhadap ekspresi VEGF dan Epo dan akan memperburuk keadaan jaringan tumor dan bahkan memudahkan terjadinya metastasis pada jenis tumor yang invasif karena banyaknya vaskularisasi abnormal di sekitar daerah tumor. Pencegahan terbentuknya HIF-1 dipengaruhi oleh ketersediaan oksigen, sehingga pemberian MnSOD dengan dosis yang tepat diharapkan dapat memperbaiki keadaan hipoksia pada jaringan tumor. Sampai saat ini masih dilakukan berbagai penelitian terkait pemanfaatan MnSOD untuk meningkatkan keberhasilan terapi pada keganasan. Peneliti di Indonesia perlu melakukan penelitian lebih lanjut agar dapat menentukan dosis yang tepat dan cara pemberian MnSOD eksogen yang aman sebagai terapi ajuvan alternatif pada penatalaksanaan keganasan.

Kesimpulan

Senyawa MnSOD memiliki peran *biphasic* dalam mempengaruhi ekspresi gen HIF-1 α . Hal tersebut disebabkan karena kemampuan MnSOD sebagai *scavenger* O₂⁻ dan menghasilkan H₂O₂. Kedua senyawa ROS tersebut akan mempengaruhi ekspresi gen HIF-1 α dan aktivasinya. Manipulasi kadar MnSOD endogen dengan menambahkan MnSOD eksogen dengan dosis tertentu tampaknya berpotensi untuk dijadikan terapi ajuvan alternatif guna meningkatkan keberhasilan terapi tumor ganas.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada perpustakaan Badan Litbangkes, yang telah membantu penulis dalam pencarian sumber pustaka.

Daftar Pustaka

1. Vaupel P, Harrison L. Tumor hypoxia: causative factors, compensatory mechanisms, and cellular response. *Oncologist*. 2004;5:4-9.
2. Vaupel P, Thews O, Hoeckel M. Treatment resistance of solid tumors: role of hypoxia and anemia. *Med Oncol*. 2001;18(4):243-59.
3. Harrison L, Blackwell K. Hypoxia and anemia: factors in decreased sensitivity to radiation therapy and chemotherapy? *Oncologist*. 2004;5:31-40.
4. Harris, A. L. Hypoxia — a key regulatory factor in tumor growth. *Nature Rev. Cancer* 2001;2:38–46 (2001).
5. Semenza GL. Regulation of Mammalian O₂ Homeostasis by Hypoxia-Inducible Factor 1 Annual Review of Cell and Developmental Biology; 1999; 15:pg :551
6. Semenza, GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nature Rev. Cancer* 2003;3:721-32.
7. Simon HU, Yehia AH, Scaffer FL. Role of reactive Oxygen species (ROS) in Apoptosis Induction. *Apoptosis* 2000;5:415-8
8. Haddad JJ. Oxygen sensing mechanism and regulation of redox responsive transcription factors in development and physiology. *Respir Res* 2002;3:1-27.
9. Jetawattana S. Role of MnSOD in the Regulation of HIF-1 α . May 2008
10. Holley AK, Bakthavatchalu V, Velez-Roman JM, St. Clair DK. Manganese Superoxide Dismutase: Guardian of the Powerhouse. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12(12):7114-62.
11. Fukui T, Ushio-Fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2011;15(6):1583-606.
12. Semenza GL. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological response to hypoxia. *J Appl Physiol* 2000;88:1474-80.
13. Zagorska A, Dulak J. HIF-1: the knowns and unknowns of hypoxia sensing. *Acta Biochim Polon*. 2004; 51(3):563-85
14. Mikkelsen RB, Wardman P. Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. *Oncogene*. 2003;22(37):5734-54.
15. Hamanaka RB, Chandel NS. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. *Trends Biochem Sci*. 2010 September ; 35(9): 505–513.

16. Sang, N. *et al.* MAPK signaling up-regulates the activity of hypoxia-inducible factors by its effects on p300. *J. Biol.Chem.*2003; 278:14013–9.
17. Halliwell B, Gutteridge JMC. Antioxidant Defences: Endogenous and Diet Derived. In: free radical in biology and Medicine. 4thed. London: Oxford University Press, 2007:79-95
18. Clair DS. Manganese superoxide dismutase : genetic variation and regulation. *J Nutr* [0022-3166/04]. 2004 [cited 2008 Apr 12];134:3190S-3191S. Available from: The Pros and Cons of Antioxidants.
19. Kinnula VL, Torkkeli T, Kristo P, Sormunen R, Soini Y, Paako P, et al. Ultrastructural and chromosomal studies on manganese superoxide dismutase in malignant mesothelioma. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol* 2004; 31:147-153.
20. Ho JC, Zheng S, Comhair AAS, Farver C, Erzurum SC. Differential expression of manganese superoxide dismutase and catalase in lung cancer. *Cancer Res* 2001;1:8578-8585.
21. Wang M, Kirk JS, Venkataraman S, Domann FE, Zhang HJ, Schafer FQ, et al. Manganese superoxide dismutase suppresses hypoxic induction of hypoxia-inducible factor-1[alpha] and vascular endothelial growth factor. *Oncogene*. 2005;24(55):8154-66.
22. DeArmond DT, Kernstine KH, Oberley LW. Transfection with manganese superoxide dismutase attenuates hypoxic HIF-1a induction in lung cancer cells. *Journal of the American College of Surgeons*. 2004;199(3):32.
23. Habib S, Ali A. Biochemistry of Nitric Oxide. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2011;26(1):3-17.
24. Brune B, Zhou J. Nitric oxide and superoxide: Interference with hypoxic signaling. *Cardiovascular Research*. 2007;75(2):275-82.
25. Fijalkowska I, Xu W, Comhair SAA, Janocha AJ, Mavrakis LA, Krishnamachary B, et al. Hypoxia Inducible-Factor1 α Regulates the Metabolic Shift of Pulmonary Hypertensive Endothelial Cells. *The American Journal of Pathology*. 2010;176(3):1130-8.
26. Buettner GR. Superoxide Dismutase in Redox Biology: The roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anticancer Agents Med Chem*. 2011;11(4):341-6.
27. Kaewpila S, Venkataraman S, Buettner RG, Oberley LW. Manganese Superoxide Dismutase Modulates Hypoxia-Inducible Factor-1 α Induction via Superoxide. *Cancer Res* 2008; 68: (8)
28. Masson N, Singleton RS, Sekirnik R, Trudgian DC, Ambrose LJ, Miranda MX, et al. The FIH hydroxylase is a cellular peroxide sensor that modulates HIF transcriptional activity. *EMBO Rep*. 2012;13(3):251-7.
29. Hagen T. Oxygen versus Reactive Oxygen in the Regulation of HIF-1: The Balance Tips. *Biochemistry Research International*. 2012;2012:1-5.