

Tavşanlarda 5-Fluorourasil'in Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisinin Araştırılması

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF 5-FLUOROURACIL ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY IN RABBITS

Mehmet AKDOĞAN*, Süleyman KALELİ**, Fatih GÜLTEKİN*,
Hüsametin VATANSEV***, Harun KIZILAY*

* Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya AD,
** Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, ISPARTA
*** Dr., Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya AD, KONYA

Özet

Bu çalışmada kanser kemoterapisinde kullanılan 5-Fluorourasilin (5-FU) tavşan eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu çalışma yaklaşık 2300-2500 g ağırlığındaki albino tipi Yeni Zelanda tavşanlar üzerinde yapılmıştır. Tavşanlar 7'şer adet olarak dört gruba ayrılmıştır. Grup I'e serum fizyolojik, Grup II'ye 5 mg/kg 5-FU, Grup III'e 10 mg/kg 5-FU ve Grup IV'e 20 mg/kg 5-FU intraperitoneal (i.p.) yolla her sabah saat 09.00'da, 5 gün süre ile uygulanmıştır. Tüm gruplarda eritrosit süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (KAT), glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktivite düzeyleri ile eritrosit malondialdehid (MDA) düzeyleri tesbit edilmiştir. 5-FU tatbik edilen gruplarda Grup I'e göre 5-FU dozajı arttırıldıkça eritrosit antioksidan enzim aktivite düzeylerinde önemli düşüş, eritrosit MDA düzeylerinde ise önemli artış görülmüştür. 5-FU'nun oluşturduğu oksidatif stresin, antioksidan savunma sistemini baskımlarken lipid peroksidasyonunu arttırdığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: 5-Fluorourasil, Eritrosit,
Antioksidan enzimler, Lipid peroksidasyonu

T Klin Tıp Bilimleri 2000, 20:203-208

Summary

To investigate the effect of 5-Fluorouracil (5-FU) which is used for cancer chemotherapy on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of rabbit erythrocyte. This study was performed on the New Zeland rabbits (albino type) with the weight of between 2300 and 2500 g. The rabbits were divided into four groups, and every group consisted 7 rabbits. Isotonic NaCl was applied to the Group I, 5-FU was applied intraperitoneally one a day for five days at 0900 with the following concentrations, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, for Group II, Group III, and Group IV, respectively. In all groups, erythrocyte superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT), and glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) activities and erythrocyte malondialdehyde (MDA) levels were studied. It was observed that while 5-FU doses were increasing, erythrocyte antioxidant enzyme activities were significantly decreased; however, erythrocyte MDA levels were significantly increased. It has been thought that oxidative stress occurred by 5-FU depresses antioxidant defense system, but increases lipid peroxidation.

Key Words: 5-Fluorouracil, Erythrocyte,
Antioxidant enzymes, Lipid peroxidation

T Klin J Med Sci 2000, 20:203-208

Son yıllarda serbest radikallerin pek çok hastalıkta ve aynı zamanda fizyolojik yaşlanma sürecinde rol oynadıkları kabul edilmektedir. Çeşitli hastalıklarda reaktif oksijen türlerinin oluşması, bu radikallerin ve yan ürünleri olan lipid per-

oksitlerinin hasar meydana getirme potansiyellerinin anlaşılması dikkatleri bu yöne çekmiştir. 5-FU florlanmış bir pirimidin antimetabolitidir. Bazı tümör hücrelerinde, normal pirimidin bazı olan urasilin normal hücrelere göre daha fazla kullanıldığı gözlenmesi üzerine sentezlenmiş bir antineoplastik ilaçtır (1). Timidilat sentetaz, uridilat (dUMP)'ı timidilat (dTMP)'a dönüştürür. Timidilat sentetaz metil grubunu N⁵, N¹⁰-metilen tetrahidrofolat'tan alır. Bu reaksiyonda tetrahidrofolat (THF)'dan bir karbon birimine ek olarak 2 hidrojen atomu da pteridin halkasından gelmiş olur. Böylece

Geliş Tarihi: 20.07.1999

Yazisma Adresi: Dr.Mehmet AKDOĞAN
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya ve Klinik Biyokimya AD
32040, ISPARTA

T Klin J Med Sci 2000, 20

203

THF, dihidrofolat (DHF)'a oksitlenir. 5-FU, bir timin analogudur ve timin analogları timidilat sentetazı inhibe ederler. Bunlar antitümör ajanları olarak tıpta kullanılır. DHF'nin THF'a indirgenmesini dihidiofolat redüktaz enzimi gerçekleştirir. Bu folat analogları THF'ı azaltarak hem pürin sentezini inhibe ederler, hem de dUMP'nin dTMP'ye metilasyonunu engellerler. Böylece DNA'nın esansiyel bileşenlerinden olan dTMP'nin hücrenel konsantrasyonunu azaltmış olurlar. Bu nedenlerden dolayı folat analogları verilince DNA sentezini inhibe ederek hücre çoğalmasını yavaşlatır. Nükleotid prekürsörlerinin oluşumunu azaltarak, DNA'nın replikasyonunu yavaşlatan ilaçlar, bu nedenlerden dolayı kanser hücrelerinin çoğalma hızını azaltmak amacıyla kullanılmaktadır (2).

Öte yandan kanser kemoterapisinde kullanılan 5-FU, neoplastik hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını durdurmayı veya tamamen yok edilmelerini amaçlayan kemoterapötik ajandır. Kanserli hücrelere olan etkilerinin yanı sıra, vücutta bir çok yan etki oluşturmaktadır. 5-FU' in başlıca yan etkileri; gastrointestinal bozukluklar, kemik iliği depresyonu, iştahsızlık, bulantı ve kusma en sık görülenlerdendir. Belirgin şekilde lökopeni yapabilir. İntravenöz infüzyona başladıktan 48 ile 72 saat sonra tehlikeli derecede koroner spazmına neden olur (3,4). Ayrıca 5-FU alopesi, dermatit pigmentasyon gibi cilt toksisitesi belirtilerine neden olabilir (5). Arrick ve ark (6) siklofosamid, metotreksat, 5-FU kombinasyonu (CMF) metabolitlerinin, eritrositlerdeki antioksidanların glutatyon gruplarına ve tiyo gruplarına direkt olarak bağlanarak enzim aktivitelerinin inhibe ettiğini saptamışlardır. Bu nedenle serbest oksijen radikalleri üzerine olan etkilerinin nasıl olacağı çalışmamızın amacını oluşturmaktadır. Bir antineoplastik ajan olarak, 5-FU'in organizmadaki yan etkilerinin bir bölümünün serbest oksijen radikalleri üzerinden olduğunu göstermektedir. Biz bu çalışmada, 5-FU'in farklı dozlarının tavşanlarda eritrosit SOD, GSH-Px, KAT, G6PD aktiviteleri ile eritrosit MDA düzeylerine ne şekilde etkilediğini araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod

Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Çalışma Laboratuvarı ve

Klinik Biyokimya Laboratuvarında yapıldı. Bu çalışma yaklaşık 2300-2500 g ağırlığındaki albino tipi Yeni Zelanda tavşanlar üzerinde yapılmıştır. Tavşanlar 7'şer adet olarak dört gruba ayrılmıştır. Grup I'e serum fizyolojik, Grup II'ye 5 mg/kg 5-FU, Grup III'e 10 mg/kg 5-FU ve Grup IV'e 20 mg/kg 5-FU intraperitoneal (i.p.) yolla her sabah saat 09.00'da, 5 gün süre ile uygulanmıştır. Tavşanlar pellet yem ve su ile beslenmiştir. 5. gün en son verilen yemden 10 saat sonra, aç olarak eter anestezisi altında tavşanlar dekapite edilmiştir ve kalplerinden 5'er cc kan alınmıştır. Kan örnekleri K3 -EDTA'lı 2 ayrı CBC tüpüne eşit miktarda aktarılmıştır. Örneklerin birinden kan sayımı yapılmıştır. Diğer kan örneği +4°C'de 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazması ayrılmıştır. Eritrositler 140 mM NaCl ve pH'ı 7.4 olan 40 mM fosfat tamponu ile 3 kez yıkanmıştır. Yıkanmış eritrosit süspansiyonundan MDA düzeylerine bakılmıştır. Kalan eritrosit süspansiyonu β -merkaptöetanol [(2.7 mM EDTA, (pH 7.0) içinde)] ile hemoliz edilmiştir. Hemolizat +4°C'de 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek hücre partikülleri çöktürülmüştür. Süpernatant hemoglobin düzeyi ile eritrosit SOD, GSH-Px, KAT ve G6PD aktivite düzeylerini tesbit etmek için kullanılmıştır (7).

Eritrosit SOD ve GSH-Px aktiviteleri ticari kit (sırasıyla Ransod Randox Laboratories, Ransel Randox Laboratories, UK) kullanılarak spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. Süperoksit dismutaz çeşitli yollarla ortaya çıkan süperoksit radikalinin H_2O_2 'ye dismutasyonunu katalizler. SOD aktivitesi, ksantin-ksantin oksidaz (XOD) sistemi tarafından üretilen süperoksit radikalinin, 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolium klorür (İNF) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazon boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (OD) spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanarak ölçüldü. Sonuçlar U/gHb cinsinden hesaplanmıştır (8).

Glutatyon peroksidaz, H_2O_2 tarafından redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG) yükseltgenmesini katalize eder. GSH-Px reaksiyonunda oluşan GSSG, glutatyon redüktaz (GR) ve NADPH yardımıyla GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi, NADPH'ın $NADP^{+}$ 'ye yükseltgenmesi sırasında oluşan absorbans farkının 340 nm'de

okunmasıyla ölçülmüştür. Sonuçlar U/gHb cinsinden hesaplanmıştır.

Eritrosit KAT aktivitesi Aebi'nin metodu ile ölçülmüştür (9). Deneyde 240 nm dalga boyunda H₂O₂ miktarının katalaz tarafından azaltılması, 15 saniye aralıklarla 2.5 dakika süresince belirlendi. Hesaplanan regresyonlara göre her bir analiz için uygun absorbanslar alınarak U/ml ekstrakt olarak katalaz aktivite değeri elde edildikten sonra sonuçlar U/gHb cinsinden hesaplanmıştır. Eritrosit yapısındaki hemoglobin miktarının ölçümü için siyanmethemoglobin oluşumu temeline dayalı Drabkin yöntemi kullanılmıştır (10).

Eritrosit G6PD aktivitesi, Beutler'in yöntemi ile ölçülmüştür (11). G6PD, NADP⁺ varlığında glukoz 6-fosfat, 6-fosfoglukonata oksitlenirken bu esnada okside NADP⁺ NADPH + H⁺a redüklenir. G6PD aktivitesi NADPH + H⁺'ın artan absorbans hızınının 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Eritrosit MDA düzeyi, Valenzuela'nın tanımladığı spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir (12). Tiyobarbitürik asit (TBA) varlığında 100°C'de kaynatılarak 532 nm'de maksimum absorbans veren stabil kırmızı-pembe rengin ölçülmesi esasına dayanır. Hemoglobin interferensinin giderilmesi amacıyla hemoglobinin maksimal absorbans verdiği 600 nm absorbans değerleri ölçülmüştür. 532 nm absorbans değerlerinden 600 nm değeri çıkarılarak hemoglobin interferensi elimine edilmiştir. Eritrositler ve serum için maksimal absorbans veren 532 nm dalga boyundaki MDA-TBA ekstinsiyon katsayısından (1.56x 10⁵/cm.M) yararlanılarak eritrosit MDA düzeyi nmol/gHb olarak belirlendi. Tüm spektrofotometrik ölçümlerde

Schimadzu marka UV-1208V (Japan) spektrofotometre kullanılmıştır.

İstatistiki değerlendirmeler için "SPSS 7.50 for Windows" istatistik paket programından yararlanılmıştır. Veriler, aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Farklı grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U, aralarındaki ilişkilerin belirlenmesinde Pearson kolerasyon analizi kullanılmıştır.

Bulgular

Eritrosit SOD aktivite düzeyleri Grup I'de, 2152± 538, Grup II'de 1901± 615, Grup III'de 1772± 434, Grup IV'de 1529± 361 U/gHb olarak saptanmıştır. Grup II ve III'deki eritrosit SOD aktivitelerindeki, Grup I'e göre olan düşüklük, istatistik önemde bulunmamıştır. Oysa, Grup IV'deki eritrosit SOD aktivitesi, Grup I'den anlamlı olarak düşüktür (p<0.05) (Tablo 1).

Eritrosit GSH-Px aktivite düzeyleri Grup I'de 41.18± 9.36, Grup II'de 35.68± 12.90, Grup III'de 27.11 ± 5.33, Grup IV'de 22.35± 4.95 U/gHb olarak saptanmıştır. Grup III ve IV'de eritrosit GSH-Px düzeyleri Grup I'e göre anlamlı derecede düşüktür (p<0.01) (Tablo 1).

Eritrosit KAT aktivite düzeyleri Grup I'de 2.2±0.81, Grup II'de 2.13±0.51, Grup III'de 1.84±0.62, Grup IV'de 1.20±0.43 U/gHb olarak saptanmıştır. Grup II ve III'de eritrosit KAT aktivite düzeyleri Grup I'e göre düşüktür, fakat istatistiksel öneme sahip değildir (p> 0.05). Grup I'de eritrosit KAT aktivitesi ise Grup IV'dekinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0.01) (Tablo 1).

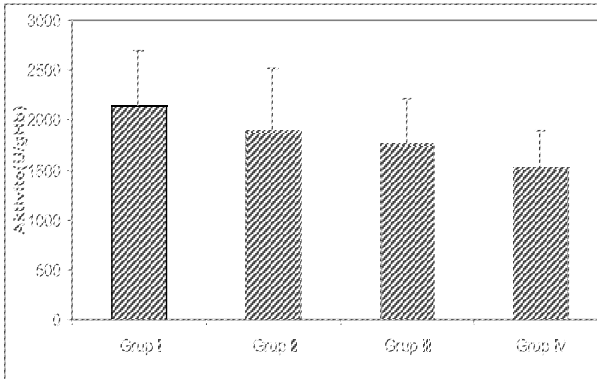
Eritrosit G6PD aktivite düzeyleri Grup I'de 15.64± 3.43, Grup II'de 13.62± 4.00, Grup III'de 10.57±

Tablo 1. Grupların eritrosit SOD (U/gHb), GSH-Px (U/gHb), KAT (U/gHb), G6PD (U/gHb) aktivite düzeyleri ile eritrosit MDA (nmol/gHb) düzeylerinin aritmetik ortalama ± SD değerleri ile istatistiksel anlamlılıkları

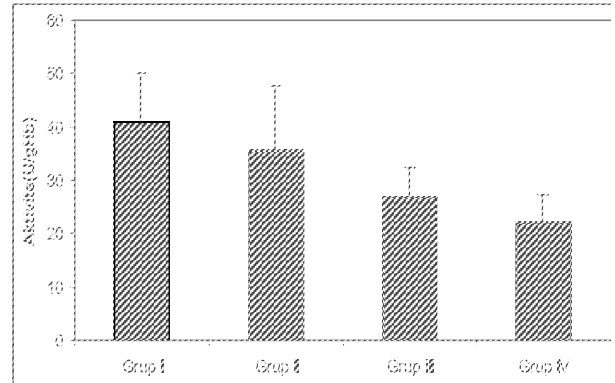
GRUPLAR	SOD	GSH-Px	CAT	G6PDH	MDA
Grup I	2152 ± 538	41.18 ± 9.36	2.20 ± 0.81	15.64 ± 3.43	1559 ± 425
Grup II	1901 ± 615	35.68 ± 12.09	2.13 ± 0.51	13.62 ± 4.00	2155 ± 426*
Grup III	1772 ± 434	27.11 ± 5.33**	1.84 ± 0.62	10.57 ± 3.12*	2290 ± 577*
Grup IV	1529 ± 361*	22.35 ± 4.95**	1.20 ± 0.43*	7.37 ± 1.97**	2421 ± 423**

* p<0.05

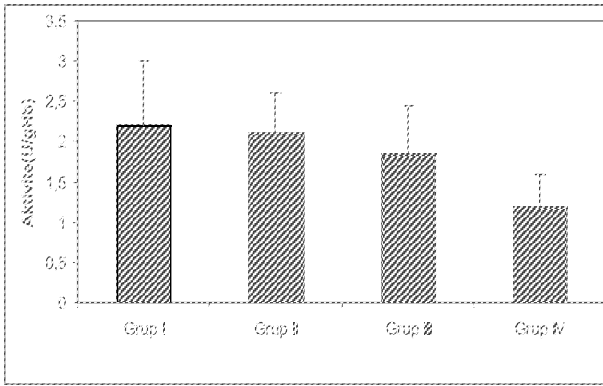
** p<0.01



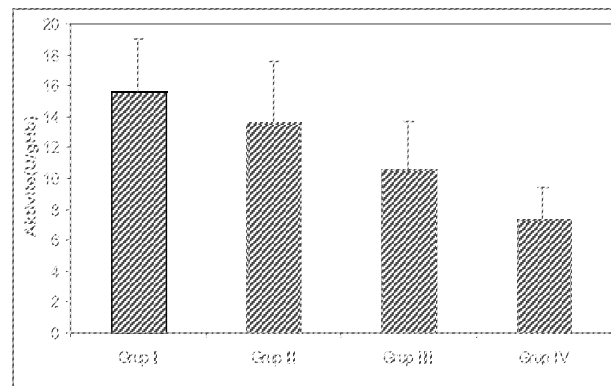
Şekil 1. Gruplara göre SOD enzim aktivite düzeyleri.



Şekil 2. Gruplara göre GSH-Px enzim aktivite düzeyleri.



Şekil 3. Gruplara göre KAT enzim aktivite düzeyleri.

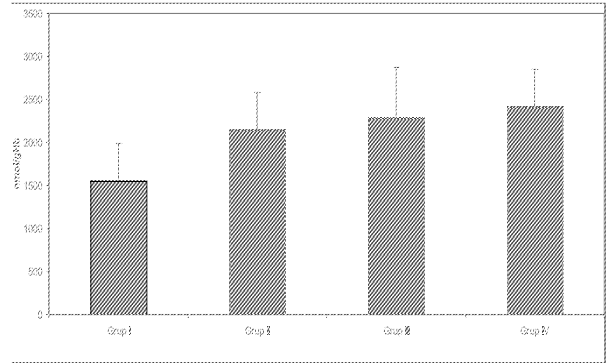


Şekil 4. Gruplara göre G6PD enzim aktivite düzeyleri.

3.12, Grup IV'de 7.37 ± 1.97 U/gHb olarak saptanmıştır. Grup III ve IV'deki G6PD aktiviteleri Grup I'dekinden anlamlı olarak düşük bulunmuştur (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.01$) (Tablo 1).

Eritrosit MDA düzeyleri Grup I'de 1559 ± 425 , Grup II'de 2155 ± 426 , Grup III'de 2290 ± 577 , Grup IV'de 2421 ± 423 nmol/gHb olarak saptanmıştır. Grup II, III ve IV'deki eritrosit MDA düzeylerinin, Grup I'dekinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.01$) (Tablo 1).

Tüm tavşanlar birlikte değerlendirildiği zaman ($n=28$) eritrosit KAT aktiviteleri ile eritrosit GSH-Px aktiviteleri arasında ($r=0.384$, $p < 0.05$), eritrosit KAT aktiviteleri ile eritrosit G6PD aktiviteleri arasında ($r=0.579$, $p < 0.01$) ve eritrosit GSH-Px aktiviteleri ile eritrosit MDA düzeyleri arasında ($r=0.519$, $p < 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmuştur. Şekil 1-5'de Grupların eritrosit



Şekil 5. Gruplara göre MDA düzeyleri.

SOD, GSH-Px, KAT, G6PD aktiviteleri ve eritrosit MDA düzeyleri grafik olarak sunulmuştur.

Tartışma

Çalışmamızda, 5-FU'nun değişik dozlarının, i.p. (intraperitoneal) olarak verildiğinde, tavşan eritrositlerindeki antioksidan enzim aktivitelerine ve

MDA düzeylerine yaptığı etkileri araştırdık. 5-FU'nun değişik dozlarda, Tavşanlarda antioksidan enzim aktivitelere ve MDA düzeylerine etkisine dair literatürdeki ilk deneysel çalışma bizim çalışmamızdır. Çalışmaya alınan tavşanların tümü sağlıklıydı ve malign hastalıkları yoktu. Bu nedenle 5-FU'nun antioksidan sisteme etkisini, malign hastalık etkisi olmadan net olarak belirleme imkanı bulduk. Daha önce yapılan klinik çalışmalarda, anti-tümör ilaçların (CMF) antioksidan enzim aktiviteğini azalttığı (13,14,15) bildirildiği gibi, bizzat tümör dokusunun bu enzim kompleks aktiviteğini düşürdüğü ve lipid peroksidasyon artışına neden olduğu (6,16,17) da gösterilmiştir.

Subremaniam ve ark (13), Bewick ve ark (15), CMF ile tedavi edilen meme kanserli hastalarda eritrosit SOD, GSH-Px, glutatyon redüktaz (GR), glutatyon s-transferaz (GST), KAT ve G6PD aktiviteğini, hasta grubunda normal insanların eritrositlerindeki daha düşük bulmuşlardır. Benzer olarak, Gonzales ve ark (14), CMF alan malign hastaların eritrositlerinde, SOD, GSH-Px ve KAT enzim aktiviteğinin azaldığını ortaya koymuşlardır. Yiming ve ark (16), CMF ile tedavi edilen meme kanserli hastalarda serum Selenyum düzeylerinin düşmesine bağlı olarak eritrosit GSH-Px, GST aktiviteğinin düştüğünü bildirmişlerdir. Arrick ve ark (6) ise, CMF metabolitlerinin, eritrositlerdeki antioksidanların glutatyon ve tiyo gruplarına direkt olarak bağlanarak enzim aktiviteğini inhibe ettiğini saptamışlar ve söz konusu anti-tümör ilaçların antioksidan enzim aktivitesine etkilerini açıklayan bir bilgi getirmişlerdir.

Öte yandan, Efemle ve ark (17), tümör dokusunun bizzat kendisinin antioksidan enzim inhibitörlerini ürettiğini ileri sürmüşler, Dormandy ve ark (18), anormal olarak çoğalan malign hücrelerde lipid peroksidasyonunun arttığını göstermişlerdir. Subramanian ve ark (19) ise CMF tedavisi almış ve tedavi almamış göğüs kanserli hastalarda kontrol grubuna göre serum, eritrosit ve eritrosit membran MDA düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir. Boyd ve ark (20). ise, meme kanserinde eritrosit membranının serbest radikal hasarına duyarlı olan poliansatüre yağ asitlerince zengin olduğunu gözlemişlerdir.

Bizim bulgularımıza göre, 5-FU'in intraperitoneal (i.p.) uygulama dozu arttıkça, antioksidan

enzim aktiviteğeri daha fazla düşmekte ve lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeyleri artmakta idi. Bu bulgular, anti-tümör bir ilaç olan 5-FU'in kendisinin, başlı başına serbest radikal artışına neden olduğunu göstermektedir. Bu durum, 5-FU ile anti-tümör tedavinin, tümörlü hastalarda, tümöre bağlı olarak artmış olan oksidan aktivite ve lipid peroksidasyonunu arttıracaklarını düşündürmektedir.

Sonuç olarak, klinikte 5-FU ile tedavi edilen hastalarda, ilaç dozunun artması ile oksidan stresin daha fazla arttığını hatırd tutmak gerekir kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. 8. Basım. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd Şti, 1998: 376-411.
2. Lemaire L, Malet-Martino MC, Forni M, Martino R, Lasserre B. Cardiotoxicity of commercial 5-fluorouracil vials stems from the alkaline hydrolysis of this drug. *Biol J Cancer* 1992; 66: 119-27.
3. Lemaire L, Malet -Martino MC, Forni M, Martino R, Lasserre B. Cardiotoxicity of commercial 5-fluorouracil vials stems from the alkaline hydrolysis of this drug. *Br J Cancer* 1992; 66: 119-27.
4. Bruijij EA, Kuppen PJK, Hoeven RM, Tijaden UR, Qosteron AT, Velde CJH, Braww LM, et al. The importance of exposure time in regional chemotherapy: Mitomycin C and fluoropyrimidines. *Contr Oncol* 1988; 29:43-8.
5. Danenberg PV. The significance of concentration and exposure time in the clinical use of fluorinated pyrimidines. *Contr Oncol* 1988; 29, 19-27.
6. Arrick BA, Nathan CF. Glutathione metabolism as a determinant of therapeutic efficacy; a review. *Cancer Res.* 1984; 44: 4224-32.
7. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 1988; 34/3; 497-500.
8. Moss DW, Henderson AR. Clinical Enzymology. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd. Burtis CA and Aswood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Co, 1999: 1551-4.
9. Aebi H. Catalase. In: Methods of enzymatic analysis. Bergmeyer HU, ed. New York: Academic Pres, London. 1974: 673.
10. Akkuş İ. Klinik biyokimya laboratuvarı el kitabı. İstanbul, Öz Eğitim Baim Yayın Dağıtım Ltd. Şti, 1997: 188.
11. Beutler E. Red Cell Metabolism. A manual of Biochemical methods. Grune and stration. New York, London, 1975: 67-9.

- 12.Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assesment of tissue oxidative stress. *Life Scien* 1990; 48: 301-9.
- 13.Subramaniam S, Shyamala S, Devi CS. Erythrocyte antioxidant enzyme activity in CMF treated breast cancer patients. *Cancer Biochem Biophys* 1994; 14: 177-82.
- 14.Gonzales R, Auclair C, Voisin E, Gautero H, Dhemy D, and Boivin P. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases. *Cancer Res* 1984; 44: 4137-9.
- 15.Bewick M, Coutie W, Tudhope GR. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in the red cells of patients with malignant lymphoma. *Br J Haematol* 1987; 65: 347-50.
- 16.Yiming XIA, Kristina E, Raymond Burk F. Biochemical studies of a selenium - deficient population in China: measurement of selenium glutathione peroxidase and other oxidant defense indices in blood. *J Nutr* 1989; 119: 1318-26.
- 17.Eflemble J, Bernard JF, Pleat CH, Belpomme D, and Boivin P. Red blood cell enzyme abnormalities in patients tested with chemotherapy. *Br J Haematol* 1979; 42: 391-8.
- 18.Dormondy TL. Free radicals oxidation and antioxidant. *Lancet* 1978;1: 647-50.
- 19.Subramaniam S, Shyama S, Jagadeesan M, Shyamala Devi, CS. Oxidant and antioxidant levels in the erythrocytes of breast cancer patients treated with CMF. *Med Sci Res* 1993; 21, 79-80.
- 20.Boyd NF, McGuire V. The possible role of lipid peroxidation in breast cancer patients. *Free Radical Biology and Medicine* 1991; 10: 185-90.