

Serbest radikaller son yıllarda en çok üzerinde durulan ve araştırmaların yoğunlaştığı bir konudur. Serbest radikallerin hücrel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı hücrel savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşması, bugün bilinmeyen pek çok klinik durumların patogenezine açıklık getirecektir (1-3).

7. Serbest Radikallerin Tanımı

Serbest (free) radikal, dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunan bir atom veya moleküldür. Hem organik hem de inorganik moleküller halinde bulunurlar (4,5).

In vivo olarak hücrede normal metabolizmanın ürünleri şeklinde açığa çıkan radikaller olduğu kadar, organizmanın iyonize edici radyasyona, oksitleyici özellik taşıyan ajanlara ve doğal durumda serbest radikal metabolitleri oluşturabilen ksenobiotiklere maruz kaldığı durumlarda da meydana gelirler (6-9).

Canlılığın devamının zorunlu bir parçası olan oksijen radikalleri sayısız enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyonlar için gereklidirler. Ancak, her bir radikalın yapısı ve etkili olduğu yere göre hücrel hedefler risk altındadır (10-12).

2. Serbest Radikallerin Reaksiyonları

Serbest radikallerin biyolojik reaksiyonlarını genel bir başlık altında incelemek oldukça güçtür. Çünkü organizmanın yaşamı boyunca karşılaştığı radikal türleri sürekli değişir. Bir ya da birden fazla tek sayıda elektron içeren bu radikaller hücrede ortaya çıktıktan sonra radikal reaksiyon dizileri başlar ki, bunlar atom transferini içerirler. Hücre içinde bir diğer önemli radikal reaksiyonu, doymamış bağlara radi-

kal eklenmesidir. Örneğin yağ asitleri ve aromatik halkalarda olduğu gibi. Serbest radikal reaksiyonları ilerleyerek hücrel hasarla sonuçlanabilir. Bu tür reaksiyonlar sonsuz olarak sürebildiği gibi serbest radikalleri kaldırıcı ya da temizleyici bileşiklerin etkisi ile ya kısmen veya tamamen ortadan kaldırılabirler (13-18).

3. Serbest Radikallerin Biyolojik Kaynakları

Aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Oksijenin redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün, süperoksit (O⁻) radikali açığa çıkar. Bu radikalden spontan ya da enzimatik dismutasyonu ile, O₂⁻ + O₂⁻ + 2 H⁺ → H₂O₂ + O₂ ikinci bir ara ürün, hidrojen peroksit oluşur. Yine süperoksit radikalının yer aldığı bir dizi reaksiyon sonucu, özellikle mitokondri içinde bir diğer radikal, hidroksil radikali (.OH) meydana gelir (10,19-22).

Normal metabolizmanın yanı sıra hiperoksia, inflamasyon, radyasyonla artan oksijen metabolizması süperoksit, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksitin oluşumunu artırır. Klinik uygulamalarda kullanılan bir çok preparat özellikle antineoplastik ajanlar örneğin adriamycin, daunorubicin ve aktivite-leri için quinoid gruplar ya da metallere gereksinim duyan antibiyotikler oksijenin serbest radikallerini açığa çıkarabilirler. Bu preparatların kemoterapötik etkilerinin ve sitotoksik yan etkilerinin pek çoğu oksijeni süperoksit radikallerine, hidrojen peroksit ve hidroksil radikaline indirgeme yeteneklerine bağlanmaktadır (21,23-31).

Organizmanın, elektromanyetik radyasyona (X-ışınlar, gamma-ışınları) ve partiküllü radyasyona

* Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD
ESKİŞEHİR

(elektronlar, protonlar, nötronlar, alfa ve beta partikülleri) maruz kalması sonucu primer radikaller açığa çıkar. Buna ilaveten fotokimyasal hava kirliliği, hiperoksia, sigara dumanı, bazı çözücüler, anestezi-kler ve genel olarak aromatik hidrokarbonlar gibi çok çeşitli çevresel ajanlar da serbest radikallerin meydana gelmesine yol açarlar (6,7,32-34).

4. Serbest Radikallerin IntraseÜüler Kaynakları

a. Küçük Moleküllerin Oksidasyonu

Çözünabilir özelliği olan ve nötral sıvı ortamda oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına girebilen hücre komponentlerinden çok çoğu intrasellüler olarak serbest radikalleri açığa çıkarırlar. Bunlar arasında tiyoller, hidrokarbonlar, katekolaminler, flavinler ve tetrahidroproteinler bulunur. Bu maddelerin tümü oksijenin redüksiyonunu sağlarken primer olarak süperoksit radikallerin meydana gelmesine neden olurlar. Süperoksit radikallerinin spontan ya da enzimatik dismutasyonu ise ikinci bir ürünü yani hidrojen peroksidi açığa çıkarır. Böylece, süperoksit radikalini veren hücreyel olaylar dismutasyon nedeni ile hidrojen peroksidi de meydana getirmiş olurlar (12,35-37).

b. Enzimler ve Proteinler

Katalitik siklusları sırasında, bir çok enzim serbest radikallerin açığa çıkmasını sağlar. Bunlardan üzerinde en çok çalışılan ksantin oksidaz olup, oksijenin hidrojen peroksidi redüksiyonu sırasında süperoksit radikalini meydana getirir. İn vivo olarak oluşturulan iskemi, ksantin oksidazı, dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüştürürken süperoksit radikalini açığa çıkarır. Benzer şekilde flavo-protein dehidrogenaz, triptofan deoksijenaz gibi enzimler de radikal oluşmasına neden olurlar (10,11,38,40).

c. Mitokondrial Elektron Transportu

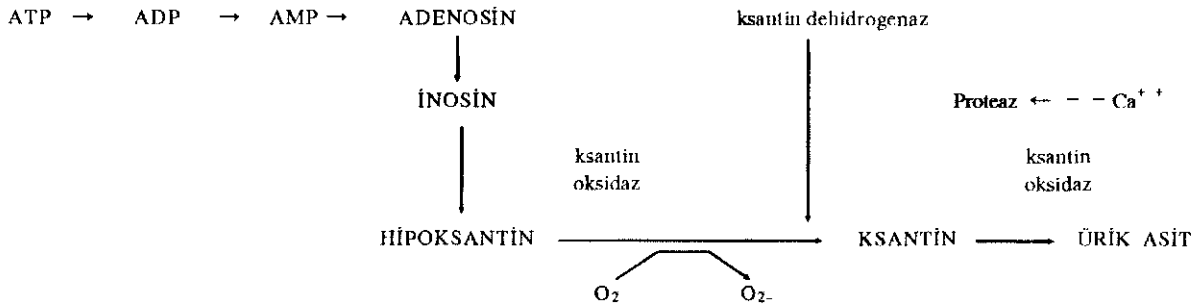
İç mitokondrial membranda lokalize oksidatif fosforilasyon zinciri komponentleri büyük oranda in-

dirgendiği zaman mitokondrial süperoksit radikalini açığa çıkışı artar. Bu durum, mitokondrial radikal yapımını etkileyen endojen faktörlerin, solunumu regüle eden maddeler olduğunu düşündürür. Solunumu regüle eden maddeler, kullanıma hazır NAD'ye bağlı substratlar, süksinat, adenosin difosfat (ADP) ve oksijendir. Eğer oksijen sitokrom oksidaz tarafından suya redüksiyonu sınırlı olacak miktarda bulunursa, artan solunum zincir redüksiyonu ve hücre içinde redükte kofaktörlerin birikimi, iskemik hücrelerde süperoksit radikal yapımını kolaylaştırır (41-43).

İzole mitokondri ve submitokondrial partiküllerle yapılan çalışmalarda, mitokondrial serbest radikallerin kaynağının, iç mitokondrial membranda yer alan elektron transport zinciri olduğu anlaşılmıştır. Başta süperoksit radikalini olmak üzere hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit mitokondri içinde meydana gelir. Normalde süperoksit ve hidrojen peroksit yapımı, mitokondrial oksijen tüketiminin yaklaşık %1-2'sini oluşturur. İntakt mitokondri, hidrojen peroksidi sitoplazmaya verebilirken süperoksit radikalini için durum farklıdır, çünkü mitokondrial süperoksit dismutaz, mitokondrial süperoksit radikalini çok düşük steady-state konsantrasyonlarda tutar ve bu yüzden mitokondrial süperoksit radikalini ve hidrojen peroksit gibi hidroksil radikalini de mitokondri de yapılabılır, bu konu ile ilgili çalışmalar yoğun bir şekilde sürdürülmektedir (44,45).

d. Endoplazmik Retikulum ve Nükleer Membran Transport Sistemleri

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikaller, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan meydana gelirler. Oluşan serbest radikaller hem intraorganel ve hem de sitozolik reaksiyonları başlatabilirler. Nükleer membrandan açığa çıkmış olan radikallerin varlığında özellikle DNA serbest radikal harabiyetine maruz kalabilmektedir (46-49).



Endoplazmik retikulum ve nükleer membranlar aynı elementleri, örneğin sitokrom P450vebs'i içerdikleri için ansature yağ asitlerini, ksenobiotikleri okside edebilir ve oksijeni indirgeyebilirler. Ayrıca flavoprotein içeren sitokrom redüktazlar da otooksidasyonla süperoksit radikali ve hidrojen peroksit oluştururlar. Mikrozomal ve nükleer membran sitokromları bir elektron transferinin direkt olarak süperoksit radikali ya da peroksisitokrom komplekslerini dissosiyeye etmesi ile hidrojen peroksit meydana getirebilirler. Rat karaciğer mikrozomlarında da hidroksil radikalının açığa çıkışı gösterilmiştir (29,38,42,43,45,50,51).

e. Peroksizomlar

Peroksizomlar, güçlü hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu yapılar, D-amino asit oksidaz, urat oksidaz, L- a hidroksi asit oksidazdan çok zengin olup, bu enzimler hidrojen peroksit açığa çıkarıcı özelliğe sahiptirler (52).

f. Plazma Membranları

Bir çok nedenle plazma membranı, serbest radikal reaksiyonları için kritik bir yerdir. Ekstrasellüler olarak açığa çıkan serbest radikaller hücrenin diğer kısımları ile reaksiyona girebilmek için ya önce plazma membranını geçmelidir, ya da toksik reaksiyonlarım membranda başlatmalıdır. Membranda bulunan fosfolipidler, gliseridler, steroller gibi ansature yağ asitleri ve kolay okside olabilen amino asitleri içeren transmembran proteinleri serbest radikal hasarına açıktır. Ayrıca, serbest radikallerin başlattığı lipid peroksidasyonu ya da yapısal öneme sahip proteinlerin oksidasyonu, transmembran iyon gradientinin bozulmasına, sekretuar fonksiyonların kaybına ve sellüler metabolik olayların inhibisyonuna yol açabilir (53).

Bu konuda son zamanlarda dikkatleri çeken bir başka nokta da lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi mikrozomal ve plazma membranına bağlı enzimlerin serbest radikal açığa çıkarmalarıdır. Bu enzimlerin predominant substratı olan araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu ile bir karbonlu serbest radikal açığa çıkar. Yine siklooksijenazın katalize ettiği araşidonik asit metabolizması sırasında bir oksijen merkezli radikal meydana gelir ki, bu radikalın hidroksil radikali olduğu ve PGG2 üzerindeki hiperoksidin parçalanması sonucu açığa çıktığı ileri sürülmektedir. Hidroksil radikali ya da diğer radikal türlerinin prostaglandin sentezi sırasında açığa çıkışı siklooksijenazın feedback regülasyonuna yol açabilir, prostaglandin sentezinin hem hızını hem de miktarını regüle edebilir (54,55).

5. Serbest Radikal Hasan Riski Altındaki Hücresel Komponentler

Serbest radikal kaynaklarının hücreye ve organel yüzeylerine yakınlığı dikkate alınırsa metabolik ürünlerin sitozolik, membran ve ekstrasellüler komponentleri etkileme şansı daha da önem kazanır. Ürünün çözünebilirliği ve diffüzyon mesafesi gibi faktörler serbest radikalın etki derecesinin belirler. Serbest radikalın reaktivitesi, başlıca diffüzyon mesafesi ile ilgilidir. Örneğin hidroksil radikalının o derece yüksek reaktivitesi vardır ki yapıldığı hücre bölümünden daha uzağa diffüzyona gerek kalmadan derhal reaksiyona girer. Oysa süperoksit radikali hidroksil radikalından daha az reaktiftir, bu yüzden açığa çıktığı hücre bölümünden daha uzak noktalara rahatlıkla diffüze olabilir. Ancak, bu diffüzyon hücre içindeki süperoksit dismutazın yüksek konsantrasyonları ile sınırlıdır, böylece hücre içinde süperoksit konsantrasyonu 10^{-10} M arasında tutulur. Hidrojen peroksit mitokondrial membranlar, peroksizomal membranlar ve plazma membranlarından kolaylıkla diffüze olarak toksik etkilerini, açığa çıktıkları noktadan daha uzak hücre bölümlerine güçlü bir şekilde gösterebilir (56,57).

A. İntrasellüler Etkiler

1. Proteinler: Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Glutasyon redüktaz ve gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenaz gibi reaktiviteleri için yukardaki aminoasitlere bağımlı olan enzimler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenerek inhibe edilirler (58-60).

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden ne derece etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir.

2. Nükleik Asitler ve DNA: Radyasyonla hücre içinde enerji depolanması sonucu iyonlar, serbest radikaller ve aktif moleküller meydana gelir. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksisite, büyük oranda, ya nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine, ya da DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Normal metabolizma sırasında, hiperoksia ve çevresel faktörler örneğin fotokimyasal hava kirliliği etkisiyle açığa çıkmış olan serbest radikallerin yol açtığı hücre

ölümüne ve mutasyonlara DNA'nın katıldığı da ileri sürülmektedir (61,62).

3. Membran Lipidleri: Membran kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon oluştururlar.

Lipid peroksidasyonu organizmada oluşan kuvvetli yükseltgen bir radikalin membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki metilen gruplarından bir H atomu uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalin süperoksit radikali ile hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Süperoksit radikali de hidroksil radikale dönüşerek etkili olmaktadır. Benzer şekilde hidrojen peroksidin de hidroksil radikale dönüştüğü bilinmektedir. Bu nedenle lipid peroksidasyonunu başlatan başlıca radikalin hidroksil radikali olduğu görüşü benimsenmektedir (63,64).

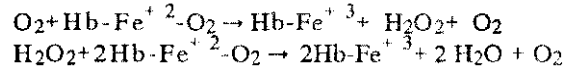
Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden bir H atomunun uzaklaştırılması sonucu, zincir radikal niteliğini kazanmaktadır. Böylece oluşan lipid radikali (L*) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Özellikle molekül içi çift bağ aktarılmasıyla dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalının moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikali meydana gelir. Bu lipid peroksit radikalleri, zar yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine (LOOH) dönüşmektedir. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek yürümektedir.

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu bileşiklerden biri olan manolindialdehit (MDA) miktarı tiobarbitirik asit testiyle ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca, oluşan ara bileşiklerinden dien konjugatlarıyla lipid hidroperoksitlerinin ve son ürünlerden etan ve pentan gibi gazların ölçümü de son yıllarda lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (46,49-63).

Lipid peroksidasyonunun, membranın lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile membran işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir (46,47).

4. Sitolik Moleküller: Sitolik proteinleri, sitoplazmik serbest radikaller nedeniyle etkilenecek

değişime uğrarlar. Hemoproteinler, örneğin oksihemoglobin, süperoksit radikallerinin ya da hidrojen peroksidin demirle reaksiyonu sonucu metemoglobine dönüşür (59).



Hemoproteinlerin geniş bir spektrumu oksijen türevi serbest radikaller tarafından harab edilebilir (61).

Süperoksidin dismutasyon ürünü olan hidrojen peroksit, CuZn-süperoksit dismutaz enzimini, Cu²⁺'i Cu⁺'e indirgeyerek inhibe edilir (65).

B. Ekstrasellüler Etkiler

Serbest radikaller, inflamatuvar cevabı ve ardından gelen doku hasarını modüle etmede önemli rol oynarlar. İnflamatuvar hücre kaynaklı serbest radikallerin oluşturduğu hasardan en çok etkilenen ekstrasellüler doku komponentleri kollajen ve hyaluronik asittir. Kollajen, süperoksit radikalının jelasyonu engellemesi sonucu harab olur. Süperoksit dismutaz (SOD), kollajeni süperoksit radikalının jelasyonu inhibe edici etkilerinden korur, eklemde, snovial sıvının viskozitesini sağlayan hyaluronik asit süperoksit radikali tarafından depolimerize edilebilir, radikalleri ortadan kaldıran enzimler söz konusu depolimerizasyona engel olurlar. Ekstrasellüler sıvılar çok az miktarda SOD içerdiğinden serbest radikallerin eser miktarları bile bu kompartımanda büyük hasara yol açabilir (66).

Aktive olmuş inflamatuvar hücrelerde meydana gelen süperoksit ve diğer oksijen türevleri bir plazma komponenti ile reaksiyona girerek ilerde inflamatuvar hücre infiltrasyonuna neden olacak kemotaktik faktör ya da faktörlerin açığa çıkmasını sağlar. Bu plazma faktörünün lökositlerden açığa çıkışı süperoksit tarafından inhibe edilebilirler (67).

6. Serbest Radikallerin Hasarına Karşı Hücresel Savunma

Oksijen türevlerine karşı savunma sağlayan küçük moleküller ve enzim sistemleri serbest radikallerin düşük steady-state konsantrasyonlarında kalmasını sağlar. Bu savunma mekanizmalarının aerobik hücrelerin canlılığını sürdürmede ne derecede kritik bir öneme sahip oldukları çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Sözü edilen hücresel savunmada rol oynayan küçük moleküller ve enzimlere aşağıdaki örnekler verilebilir.

A. Düşük Molekül Ağırlıklı Serbest Radikal Temizleyiciler

1. Lipidde Çözünabilir Olanlar: Bir dizi molekül, membranda lipofilik serbest radikalleri daha az toksik forma indirger. Vitamin E, süperoksit hidroksil ve lipid peroksit radikallerini bu şekilde etkiler. Benzer şekilde askorbat, suda çözünabilir bir redüktan ve radikal temizleyici olup ayrıca tokoferollerini indirgenmiş aktif formda tutar. Yine beta-karoten de lipid peroksidasyonu önler ve radikalleri ortadan kaldırır. Monosakkaritler, doymamış aminoasitler, sülfür içeren aminoasitler, ansature yağ asitleri de serbest radikallerle reaksiyona girerler ve bu nedenle hücrede serbest radikalleri temizleyici moleküller olarak kabul edilirler (68-70).

2. Sitoplazmik Temizleyiciler: Redükte Glutasyon (GSH), hidrojen peroksidi, lipid peroksitleri, disülfidleri, askorbat ve serbest radikalleri indirgeyebilir. Glutasyon peroksidazlar adı altında bir grup enzim peroksit redüksiyonunu katalize eder. Bu enzimler, selenyum kapsamları, fiziksel özellikleri ve substrat özgülüğü bakımından hem içeren peroksidazlardan farklılık gösterirler. Glutasyonun peroksitlerle ve disülfidlerle reaksiyonundan okside glutasyon oluşur. Okside glutasyon bir flavoprotein yapısında olan glutasyon redüktöz enzimi tarafından yeniden redüklenir. GSH, glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptid olup, aktif bir sülfhidril grubuna sahiptir. Çeşitli proteinlerin örneğin hemoglobin, katalaz ve hücre zarındaki lipoproteinlerin -SH gruplarını koruyucu olarak önemli rol oynar (58).

B. Enzimatik Serbest Radikal Temizleyiciler

Katalaz ve peroksidazlar hidrojen peroksidin steady-state konsantrasyonunu düşürmeye yardım

ettikleri için serbest radikal temizleyicileri olarak kabul edilirler. Böylece hidrojen peroksidin sitotoksik gücü büyük ölçüde intrasellüler katalaz ve peroksidaz aktivitelerinin ve hidrojen peroksidi hidroksil radikaline indirgeyebilen geçiş metallerinin bir fonksiyonu olmaktadır. Katalaz ve glutasyon peroksidazların sellüler aktivite farkları henüz tanımlanmamış olmakla birlikte peroksidazların yüksek katalaz aktivitesine sahip oldukları bilinmektedir (71,72).

SOD'lar, süperoksit radikalini hidrojen perokside dönüştüren dismutasyon reaksiyonunda etkili metalloprotein yapısında enzimlerdir. Memeli hücrelerinde Cu-Zn ve Mn içeren iki ayrı tipte enzim belirlenmiştir. Subsellüler dağılım hücre tipine, organa ve memeli türüne göre farklılık gösterebilir. Plazmada düşük aktiviteli SOD olduğu ileri sürülmüştür. Genel olarak SOD enzim sistemi, antagonistik olmaktan çok, organizmayı serbest radikal hasarına karşı koruyucu bir sistemdir. Organizmada oksidan stresin arttığı bazı klinik durumlarda adı geçen enzim sistemi, aktivitesini arttırarak koruyucu etkinliğini sürdürmeye çalışır. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalmanın söz konusu olduğu klinik durumlarda SOD aktivitesinin arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir. SOD'ın koruyucu etkisi, klinik çalışmalara yeni ufuklar açmıştır. Gerek çeşitli hastalıkların patogenezinde serbest radikallerin yeri, gerekse SOD'ın bu hastalıklarda profilaktik ve terapötik olarak kullanımını, son yıllarda bir çok çalışmanın en popüler konuları arasına girmiştir (73-75).

KAYNAKLAR

1. Halliwell B, Grootveld M. The Measurement of Free Radical Reactions in Humans, Some Thoughts for Future Experimentation. FEBS LETTERS 1987; 213:9-14.
2. McCord JM. Mechanisms of Disease, Oxygen-Derived Free Radicals in Post ischemic Tissue injury. N Eng J Med 1985; 312:159-63.
3. Slater TF. Free Radicals and Tissue Injury: fact and fiction. Br J Cancer, 1987; 55:540.
4. Barton DHR, Zard SZ. Radicals: Their Importance in Synthetic Chemistry and Their Relevance to Biology. Phil Trans R Soc Lond 1085; 311:805.
5. Mearson FZ, Kagon VE, Kozlov YP, Belktna LM, Arkhipenko Y V. The role of Lipid Peroxidation in Pathogenesis of Ischemic Damage and The Antioxidant Protection of The Heart. Basic Res Cardiol 1982; 77:465-85.
6. Borek C. Radiation and Chemically Induced Transformation: Free Radicals, Antioxidants and Cancer. Br J Cancer 1987; 55:74-86.
7. Petkau A. Role of Superoxide Dismutase in Modification of Radiation Injury. Br J Cancer 1987; 55:87-95.
8. Adams GE. Radiation and Cancer: A Two Edge Sword. Br J Cancer 1987; 55:11-8.
9. Cohen GM, d'Arcy Doherty M. Free Radical Mediated Cell Toxicity by Redox Cycling Chemicals. Br J Cancer 1987; 55:46-52.
10. Angel MF, et al. Free Radicals: Basic Concepts Concerning Their Chemistry, Pathophysiology and Relevance to Plastic Surgery. Plast Reconstr Surg 1987; 79:990-7.

11. Bulkeley GB. Free Radical-mediated Reperfusion Injury: A Selective Review. 1987;55:66-73.
12. Galat JA, et al. Postischemia Renal Dysfunction: The Limited Role of Xanthine Oxidase Generated Oxygen Free Radicals. J Surg Res 1990; 49:488-92.
13. Southard JH, Marsh DC, Mc Anulty JF, Beizer FO. Oxygen-derived Free Radical Damage in Organ Preservation: Activity of Superoxide Dismutase and Xanthine oxidase. Surgery 1987; 101:566.
14. Marubayashi S, Dohi K, Ochi K, et al. Role of Free Radicals in Ischemia Rat Liver Cell Injury: Prevention of Damage by-tocopherol Administration. Surgery 1986; 99:184-91.
15. Marubayashi S, Dohi K, Yamada K, et al. Changes in The Levels of Endogenous Coenzyme Q homologs, a-tocopherol and Glutathione in Rat Liver After Hepatic Ischemia and Reperfusion, and The Effect of Pretreatment with Coenzyme Q10, Biochim. Biophys Acta 1984; 797:1-9.
16. Jenninsche E. Possible Influence of Glutathione on Postschemic Liver Injury. Acta Pathol. Microbiol Scand 1984;92:55-64.
17. Marubayashi S, Dohi K, Kawaski T. Role of Free Radicals in Ischemic Rat Liver Cell Injury. Prevention of Damages by Vitamin E, Coenzyme Q10 or Reduced Glutathione Administration. Surg Forum 1985;36:136-8.
18. Siems W, Mielke B, Muller M, et al. Status of Glutathione in The Rat Liver. Enhanced Formation of Oxygen Radicals at Low Oxygen Tension Biomed Biochim Acta 1983; 42:1079-89.
19. Parks DA, Granger DN, Bulkeley GB. Superoxide Radicals and Mucosal Lesions in The Ischemic Small Intestine, Fed Proc 1982;41:1742.
20. Granger DN, Rutigli G, Mc Cord JM. Superoxide Radicals In Feline Intestinal Ischemia. Gastroenterology 1981; 81:22-9.
21. Parks DA, Bulkeley GB, Granger DN, Hamilton SR, Mc Cord JM. Ischemia Injury in The Cat Small Intestine: Role of Superoxide Radicals. Gastroenterology 1982; 82:9-15.
22. Groggaard B, Parks DA, Granger N, et al. Effects of Ischemia and Oxygen Radicals on Mucosal Albumin Clearance in Intestine. Am J Physiol 1982; 242:448-54.
23. Graham DG, Tiffany SM, Bell WR, Gutknecht WF. Autoxidation Versus Covalent Binding Quinones as The Mechanism of Toxicity of Dopamine 6-Hydroxydopamine and Related Compounds Towards C 1300 Neuroblastoma Cells in vitro. Mol Pharmacol 1978; 14:644-53.
24. Kappus FI, Sies H. Toxic Drug Effects Associated with Oxygen metabolism: Redox Cycling and Lipid Peroxidation. Experientia 1981;37:1238-41.
25. Casini AF, Pompella A, Comperti M. Liver Glutathione Depletion Induced by Bromobenzene, Iodobenzen and Diethylmaleate Poisoning and Its Relation to Lipid Peroxidation and Necrosis. Am J Pathol 1985; 118:225-37.
26. Williams AT, Burk RF. Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity: An Example of Free Radical-Mediated Injury. Seminars in Liver Disease 1990; 10:279-84.
27. Parks DA, Granger DN. Ischemia-Reperfusion Injury: A Radical View. Hepatology 1988; 8:680-2.
28. Reed DJ. Status of Calcium and Thiols in Hepatocellular Injury by Oxidative Stress. Seminars in Liver Disease 1990; 10:285-92.
29. Kalra J, Chaudhary AK, Massey KL, Prasad K. Effect of Oxygen Free Radicals, Hypoxia and pH on The Release of Liver Lysosomal Enzymes. Mol Cell Biochem 1990; 94:1-8.
30. Bagchi D, Das DK, Engelman RM, et al. Polymorphonuclear Leucocytes as Potential Source of Free Radicals in The Ischemia-Reperfused Myocardium. Eur Heart J 1990; 11:800-13.
31. Erden M, Yüce K, Kiper H, Çolak Ö, Alataş Ö. Böbrek Transplantasyonunda Lipid Peroksid, Redükte Glutasyon ve Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitelerinin Araştırılması, Doğa-Tr. JMed Sci 1991; 15:1-7.
32. Jozwtak Z, Helszer Z. Participation of Free Oxygen Radicals in Damage of Porcine Erythrocytes. Radiat Res 1981;88:11.
33. Petkau A, Chelack WS. Radioprotection by Superoxide Dismutase of Macrophage Progenitor Cells from Mouse Bone Marrow. Biochem Biophys Res Commun 1984; 119:1089.
34. Mole RH, Papworth DG, Corp MJ. The Dose-Response for X-ray Induction of Myeloid leukoemia in Male CBA/II Mice. Br J Cancer 1983; 47:285.
35. Bulkeley GB. The Role of Oxygen Free Radicals in Human Disease Processes. Surgery 1983; 94:407.
36. Freeman BA, Young SI, Crapo JD. Liposome-Mediated Augmentation of Superoxide Dismutase in Endothelial Cells Prevents Oxygen Injury. J Biol Chem 1983; 258:1234.
37. Rosen GM, Freeman BA. Detection of Superoxide Generated by Endothelial Cells. Proc Natl Acad Sci USA 1984; 23:7269.
38. Southard JH, Marsh DC, Mc Anulty JF, Beizer FO. Oxygen-Derived Free Radical Damage in Organ Preservation. Activity of Superoxide Dismutase and Xanthine Oxidase. Surgery 1987; 101:566.
39. Grisham MB, Hernandez IA, Granger DN. Xanthine oxidase and Neutrophil Infiltration in Intestinal Ischemia. Amer J Physiol 1986; 251:567.
40. Jarasch ED, Bruder G, Heid HW. Significance of Xanthine Oxidase in Capillary Endothelial Cells. Acta Physiol Scand Suppl 1986; 548:39.
41. Nodström G, Söjlö A, Hasseigren PO. Studies on The Possible Role of Oxygen-Derived Free Radicals for Impairment of Protein and Energy Metabolism in Liver Ischemia. Circul Shock 1988; 26:115-26.
42. Schönfeld P, Sclüld L, Kurtz W. Long-chain Fatty Acids act as Protonophoric Uncouplers of Oxidative Phosphorylation in Rat Liver Mitochondria. Biochim Biophys Acta 1989; 977:266-72.
43. Tanaka A, Chance B, Quistor B. A Possible Role of Inorganic Phosphate as a Regulator of Oxide five Phosphorylation in Combined Urea Synthesis and Gluconeogenesis in Perfused Rat Liver. J Biol Chem 1989; 264:10034-40.

44. Brvjstovetsky NN, Mayevsky EI, Grishma EV, et al. Regulation of The Rate of Respiration and Oxidative Phosphorylation in Liver Mitochondria from Hibernating Ground Squirrels, *Citellus Undulatus*. *Comp Biochem Physiol* 1989;94B:537-41.
45. Brown GC, Sakin-Thomas PL, Brand MD. Control of Respiration and Oxidative Phosphorylation in Isolated Rat Liver Cells: *Eur J Biochem* 1990; 192:355-62.
46. Baird MB, Birnbaum LS, Sfeir GT. NADPH-Driven Lipid Peroxidation in Rat Liver Nuclei and Nuclear Membranes. *Arch Biochem Biophys* 1980; 200:108-15.
47. Tornado A, Kodaira K, Taketo A, et al. Isolation of Human Erythrocyte Membranes In Glucose Solution. *Anal Biochem* 1984; 140:386-90.
48. Wolters H, van Tilburg CAM, Konings AWT. Radiation-induced Lipid Peroxidation: Influence of Oxygen Concentration and Membrane Lipid Composition. *J Radiol Biol* 1987;51:619-28.
49. Vaca CE, Wilhelm J, Harms-Ringdahl M. Studies on Lipid Peroxidation in Rat Liver Nuclei and Isolated Nuclear Membranes. *Biochim Biophys Acta* 1988; 958:375-87.
50. Bast A, Haennen GRMM. Cytochrome P-450 and Glutathione: What is the Significance of Their Interrelationship peroxidation? *Trends Biochem Sei* 1984; 9:510.
51. Hartz JW, Morton RE, Waite MM, Morris HP. Correlation of Fatty Acyl composition of Mitochondrial and Microsomal phospholipid with Growth rate of Rat Hepatomas. *Lab Invest* 1982; 46:73-8.
52. White A, Handler P, Smith EL. Principles of Biochemistry (5th ed). New York, St. Louis, San Francisco, Düsseldorf, London, Montreal, Toronto. McGraw-Hill Book Co, 1973:677.
53. Shearman CP, Gosling P, Civynn BR, Simms MH. Systemic Effect Associated with Intermittent Claudication. A Model to Study Biochemical Aspects of Vascular Disease. *Eur J Vase Surg* 1988;2:401-4.
54. Sedor JR. Free Radicals and Prostanoid Synthesis. *J Lab Clin Med* 1986; 108:521.
55. Colletti LM, Burch GD, Campbell DA. Prostaglandin E2 protects The Isolated Perfused Rabbit Liver from an Oxygen Free Radical-induced Injury. *Transplant Proc* 1990; 22(5):2381-3.
56. Castro GD, Lopez A, Gastro JA. Evidence for hydroxyl free radical formation during paraquat but not for nifuntimox liver microsomal biotransformation. A dimethyl-sulfoxide scavenging study. *Arch Toxicol* 1988; 62:355-8.
57. Robak J, Gryglewski RJ. Flavanoids are Scavengers of Superoxide Anions. *Biochem Pharmacol* 1988; 37:837-41.
58. Erden M, Bor NM. Changes of Reduced Glutathione, Glutathione Peroxidase after Radiation in Guinea Pigs. *Biochem Med* 1984; 31:217-27.
59. Erden M. Changes of Hexose monophosphate Pathway and Methemoglobin Reductase Enzyme Activity after Radiation Guinea Pigs. *Comp Biochem Physiol* 1987; 86:629-33.
60. Mitchell JB, Russo A. The role of Glutathione in Radiation and Drug Induced Cytotoxicity. *Br J Cancer* 1987; 55:96-104.
61. Blakely WF, et al. Hydrogen Peroxide Induced Base Damage in DNA. *Radiat Res* 1990; 121:338-43.
62. Mason RP, et al. Free Radical reactions with DNA and Its Nucleotides. *Basic Life Sci* 1990; 52:119.
63. Piretti MV, Pagliuca G, Vasine M. Proposal of An Analytical Method for the Study of the Oxidation Products of Membrane Lipids. *Anal Biochem* 1987; 167:358-61.
64. Maede Y, Kuwabara M, Sasaki A, et al. Elevated Glutathione Accelerates Oxidative Damage to Erythrocytes Produced by Aromatic Disulfide. *Blood* 1987; 73:312-7.
65. Kaji H, Kurasaki M, Ito K, Saito T, et al. Increased lipoperoxide Value and Glutathione Peroxidase Activity in Blood Plasma of Type 2 (Non-Insulin-Dependent) Diabetic Women. *Klin Wocheinschr* 1985; 63:365-8.
66. Weitz Z, et al. Degradation of Hyaluronic Acid by Neutrophil Derived Oxygen Radicals is Stimulus Dependent. *J Rheumatol* 1988; 15(8): 1250-3.
67. Kokoglu E, Aktuglu G, Belce A. Leucocyte Superoxide Dismutase Levels in Acute and Chronic Leukemias. *Leukemia Res* 1989; 13:457-8.
68. Doba T, Burton GW, Ingold KU. Antioxidant and co-antioxidant Activity of Vitamin C. The Effect of Vitamin C either Alone or in the Presence of Vitamin E or a Water-Soluble Vitamin E analogue, upon the Peroxidation of Aqueous Multilamellar Phospholipid Liposomes. *Biochim Biophys Acta* 1985; 835:295-303.
69. Hammad II, Higaslii T, Tateishi N, Hanatani M, Sakamoto Y. Lipid Peroxidation in The Liver of Carcinogen-Resistant Rats. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1045:99-106.
70. Sugmo K, Dohi K, Yamada K, Kawasaki T. The Role of Lipid Peroxidation in Endotoxin-Induced Hepatic Damage and The Protective Effect of Antioxidants. *Surgery* 1987; 101:746-52.
71. Gaetani GF, Galiano S, Canepa L, Ferraris AM, Krikman HN. Catalase and Glutathione Peroxidase are Equally Active in Detoxification of Hydrogen Peroxide in Human Erythrocytes. *Blood* 1989; 73:334-9.
72. Valanzuela A, et al. Effect of Lead Acetate on Cerebral Glutathione Peroxidase and Catalase in The Suckling Rat. *Neurotoxicology* 1989; 10:63-9.
73. Fattal A, Spierer Z, Golander A. Superoxide Dismutase Activity in The Erythrocyte of The Term Newborn and Premature. *Enzyme* 1989; 41:187-90.
74. Yasuyama T, Inoue K, Koyima T, Sasaki H. Activities, electrophoretic Profiles and Immunolocalization of Superoxide Dismutase in Human Liver specimens. *Jpn J Med* 1988;27:34-41.
75. Rooprai HK, Pratt OE, Shaw GK, Thomson AD. Superoxide Dismutase in The Erythrocytes of Acute Alcoholics During Detoxification Alcohol. *Alcohol* 1989; 24:503-7.