

## Serbest Radikaller

Namık Delibaş<sup>1</sup>

Ramazan Özcankaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yrd.Doç.Dr. SDÜ Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, ISPARTA.

<sup>2</sup>Yrd.Doç.Dr. SDÜ Tıp Fakültesi, Psikiyatri Anabilim Dalı, ISPARTA.

### Özet

Serbest radikaller birçok fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar esnasında oluşabilen, eşleşmemiş bir elektronu bulunan reaktif moleküllerdir. Eşleşmemiş elektron bu molekülleri oldukça reaktif hale getirir ve protein, lipid ve nükleik asitler gibi önemli molekülleri tahrip edecek reaksiyonları başlatabilirler. Dokular serbest radikal ataklarından korunmak ve oluşabilecek hasarı azaltmak için oldukça kompleks bir defans mekanizması ile donatılmıştır. Son zamanlarda katarakt, ateroskleroz, Parkinson hastalığı, reperfüzyon hasarı gibi birçok hastalıkta serbest radikallerin rol oynadığı daha belirgin bir hale gelmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Serbest radikaller, transisyon metalleri, antioksidanlar.

### Free Radicals

#### Abstract

Free radicals are reactive chemical species with an unpaired electron that are produced through a variety of physiologic and pathologic processes. The unpaired electron makes these compounds highly reactive and they can initiate disruptive peroxidation reactions with various substrates important for the survival of cells such as proteins, lipids and nucleic acids. A fairly complex defense system has evolved to protect living tissue from free radicals and to minimize the damage they might cause. Recently it has become quiet clear that oxygen free radicals are involved in a vast amount of diseases such as cataract, atherosclerosis, Parkinson's disease, reperfusion injuries and many others.

**Key Words:** Free radicals, transition metals, antioxidants.

### Tanım

Serbest radikal; birçok fizyolojik veya patolojik süreçte üretilen, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronu bulunan herhangi bir atom veya moleküldür (1-3). Bir bileşik bir elektron kaybederek veya ilave bir elektron alarak serbest radikal oluşabilir. Serbest radikaller homolitik bağ yıkımı ile de oluşabilir. Homolitik parçalanmada kovalen bağ simetrik olarak ayrılır ve ortaya çıkan iki parçada da tek birer elektron kalır ve serbest radikal oluşur. Serbest radikaller pozitif veya negatif yüklü veya nötral olabilirler (4). Radikaller daha büyük bir yapının parçası olabilir, daha immobil olabilir veya küçük ve serbestçe difüze olabilen türler halinde olabilir (serbest radikal).

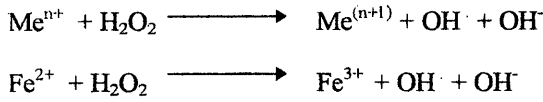
#### Serbest Radikal Oluşumu ve Türleri

Eşleşmemiş elektron biyolojik önemi olan birçok atomda bulunabilir. Sülfür, karbon, hidro-

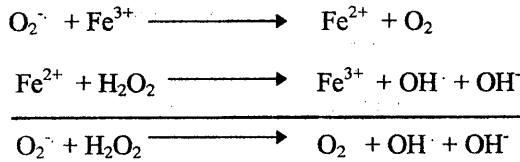
jen veya nitrojen merkezli radikaller olabilir. Diatomik oksijen iki tane eşleşmemiş elektronu bulunduğu için kendisi zaten bir radikaldir. Oksijenin suya indirgenmesi ardışık univalan basamaklarda olur. Bundan dolayı oksijenin bir elektron redüksiyonu mümkündür. Moleküler oksijen kolayca bir elektron kazanarak, süperoksit anyon radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) olarak isimlendirilen, bir tane eşleşmemiş elektronu bulunan radikal oluşur (1,5). Biyolojik sistemlerde önemli serbest radikallerin çoğu oksijene dayanır. Hücreler hasta veya yaşlı olduğu zaman fazla miktarda serbest radikal üretirler (6).

Canlı sistemlerin temel özelliklerinden birisi enerji akımını kontrol edebilmesidir. Aerobik yaşam şekilleri için bu; substratların kontrollü ve etkili bir yolla okside edilebilmesini kapsar ve bu yolla ATP gibi yüksek enerjili fosfat bileşikleri üretilir (4). Oksijen hem tetravalan hem de univalan redüksiyona uğrayabilir. Oksijenin univalan redüksiyonu ve oksijenin suya dönüşümü

esnasında birçok serbest radikal ürünü ve oldukça reaktif maddeler oluşur (7). Serbest radikaller, iyonizan radyasyon (8) ve bazı ksenobiyotiklere bağlı oluşuma ilaveten, vücut-taki normal biyokimyasal oksidoredüksiyon reaksiyonlarında da devamlı üretilir (9). Bu reaksiyonlarda birçok enzim moleküler oksijenin, univalan redüksiyonu ile süperoksit radikali oluşması reaksiyonunu katalize eder. İlave serbest radikal oluşum kaynakları; aktive lökosit ve makrofajlar, doku iskemisi ve reperfüzyon ve arasıdonik asit kaskadıdır (10).  $O_2^-$ , hem oksidan hem de indirgendir. Adrenalin, dopamin, askor-bat veya hidroksilamini oksitler, nitrobluetetra-zolium veya sitokrom c'yi indirger (11). Süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ) spontan dismutasyon reaksiyonuna uğrayabilir. Bir  $O_2^-$  bir diğeriyle reaksiyona girer ve  $H_2O_2$  oluşur.  $H_2O_2$ 'ye bir elektron ve bir proton ( $e^-$  ve  $H^+$ ) eklenmesiyle oldukça reaktif hidroksil radikali oluşur. Aslında  $H_2O_2$  gerçek bir serbest radikal olmamasına rağmen, hidroksil radikali oluşumuna yol açabildiğinden dolayı önemli bir oksidandır. Hidroksil radikali oluşumu metal iyon bağımlı bir reaksiyondur. Serbest transisyon metalleri (Fe, Cu, Mn) varlığında,  $H_2O_2$  bilinen en reaktif oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturabilir (6,12,13). Bu reaksiyon Fenton reaksiyonu olarak isimlendirilir:



Süperoksit radikali varlığında, transisyon metalleri Haber Weiss reaksiyonu katalizörleri olarak davranabilirler. Bu reaksiyonda da hidroksil radikalleri üretilir:



Moleküler oksijen ideal terminal elektron akseptörüdür. Elektronlara karşı yüksek afinitesi vardır. Diğer güçlü elektron akseptörlerinin aksine oksijen bir katalizörle aktive edilmedikçe çok yavaş reaksiyon verir. Oksijenin aktivasyonu aerobik yaşam için gerekli fakat aynı zamanda aerobik hücreler için potansiyel bir tehlikedir. Oksijenin güvenli redüksiyon stratejisi, kısmi

indirgenmiş ara ürünler oluşturmamaya yöneliktir. Sitokrom oksidaz bu hayati olayı başarıyla yürütür (14). Bununla birlikte birçok oksidasyon reaksiyonunda az miktar süperoksit anyonu oluşumu kaçınılmazdır.

Reaktif oksijen türlerinin diğer bir grubu organik peroksitler (ROOH) ve bunların homolitik yıkım ürünleri olan; alkoksil (RO $\cdot$ ) ve hidroperoksil (ROO $\cdot$ ) radikalleri veya indirek olarak hidro ve semikinonlar veya nitroaromatlarıdır.

Nitrik oksit radikal toplayıcısıdır. NO radikali endotel türevi gevşetici faktörle eşdeştir ve damar düz kas hücrelerinin gevşemesi için temel sinyali oluşturur. Hiperkolesterolemi ve ateroskleroz gibi, NO salınımının düşük olduğu durumlarda, trombosit agregasyonuna cevap olarak oluşan endotel bağımlı gevşeme olmaz. NO'nun hem sitoprotektif hem de sitotoksik etkilerinden söz edilmektedir. Nitrik oksit sentaz enzimi (NOS; EC 1.14.13.39) L-arginini sitrüllin ve NO radikaline çevirir. NO, L-argininin terminal guanido azotundan oluşur.

#### Toksik Oksijen Radikallerinin Kaynakları

Hücrelerde birçok endojen radikal üretim kaynağı vardır.

1-Mitokondrial ve mikrozomal elektron transport zinciri

2-Aktive fagositler {polimorfonükleer lökosit (PMN) ve makrofajlar}

PMN fagositte ettiği bakterileri öldürmek ve nekrotik dokuları temizlemek için proteazlarla birlikte oksijen radikallerini kullanır (15). PMN'nin aktive olmuş komplemanla aktivasyonu bir respiratuar patlama enzimini uyarır. Bu durumda PMN'nin oksijen tüketimi 80 kat kadar artar ve bu oksijen özellikle kısa ömürlü ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , HO $\cdot$ ) ve uzun ömürlü (HClO) olmak üzere toksik oksijen türleri üretiminde kullanılır. Bu mekanizma enfeksiyon hastalıklarında, enflamatuar hastalıklarda, lokal inflamasyonda (Artrit, Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS) gibi), normal yara iyileşmesinde ve sekonder olarak iskemi-reperfüzyon durumlarında etkilidir (16,17).

3-İskemi-reperfüzyon

Paradoksik olarak iskemi sonrası reperfüzyon ve hipoksiden sonra reoksijenasyon doku

hasarına yol açabilir (18-20). Bu özel durum şu hastalıklarda görülür:

- Bazı damar tıkanma tipleri (MI, felç)
- Mikrosirkülasyon kaybı (Diabet, Refleks Sempatik Distrofi)
- Bütün hipoksi halleri
- Şok
- Cerrahi müdahale bölgesindeki kansızlık veya damarların klempleneşmesi
- Organ transplantasyonu

4-Araşidonik asit kaskadının aktivasyonu. Araşidonik asit kaskadı PLA<sub>2</sub> ile aktive edilince, lipid peroksidasyonu süreci başlatılır.

5-Endojenöz bileşiklerin otooksidasyonu. Katekolaminler ve monosakkaritler gibi moleküllerin otooksidasyonunun endojen oksidatif strese katkıda bulunduğu dair deliller artmaktadır (1).

6-Sitokrom p450, Ksantin Oksidaz ve NADPH Oksidaz (respiratory burst oxidase)'ın katalizlediği reaksiyonlarda serbest radikaller oluşur.

Bütün bu reaksiyonlar genellikle birçok bölgede eşzamanlı olarak oluşur.

Önemli eksojen oluşum kaynakları:

-Aşırı oksijen konsantrasyonu (hiperoksi). Oksijen için yüksek K<sub>M</sub>'i olan enzim sistemlerini aktive eder ve bazıları oksijen radikalleri üretir.

-İyonizan radyasyon

-Sigara içilmesi

-Redoks sikling ksenobiyotikler. Bir herbisit olan paraquat ve sitostatik bir ilaç olan doksorubisin.

### Oksijen Radikallerinin Etkileri

Serbest radikallerin biyolojik sistemlerdeki zararlı etkileri çeşitlidir. Oksidatif atağa meyilli olan nükleik asitler, aminoasitler, proteinler, karbonhidratlar ve lipidler gibi bütün hücre elemanlarında hasara yol açabilir. Proteinlerin tiyol gruplarının oksidasyonu 1-Enzim fonksiyonunda kayıpla (Örneğin: α<sub>1</sub> antitripsin gibi proteaz inhibitörlerinin oksijen radikalleri ile inaktive edilmesi, pulmoner amfizemde olduğu gibi aşırı elastaz aktivitesine yol açar), 2-

Membrandan iyon ve metabolit transportunda bozulma ve 3-Kontraktıl fonksiyonlarda bozulma ile sonuçlanır. Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu membran akışkanlığında değişime yol açar. Permeabilite özellikleri değişir. Örneğin: Anormal Ca<sup>2+</sup> girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının disregülasyonuna ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına (uncoupling) yol açar. Sinir lifleri etrafındaki myelin kılıfın peroksidasyonu (demiyelinizasyon) nörolojik bir hastalık skoru olabilir. Akciğer surfaktanının peroksidasyonu atelettazi ve pulmoner disfonksiyona (ARDS) yol açar. Oksijen radikalleri oksidatif yırtılma ile DNA hasarına yol açabilir, mutasyonlara ve karsinogeneze sebep olabilir (21-23). Hiroşima ve Nagazaki'ye atılan bombaların büyük biyolojik etkileri bu mekanizmayla açıklanmaktadır (1). Polisakkaritlerin oksidatif yıkımı fonksiyon değişikliğine yol açabilir. Örneğin: Eklem lubrikantı olan hyaluronik asidin viskozitesi kaybolur.

Oksijen radikalleri poliansatüre yağ asitlerine etkiyerek, lipid peroksidasyonuna yol açar. Membran kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilir. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin, poliansatüre yağ asitlerinin metilenik karbonlarından hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlar. Demir lipid peroksidasyonunda, zincir reaksiyonunun başlangıcında önemli rol oynar (4). Organizmada demir güvenli bir şekilde sekestre edilmiş görünmektedir. Bundan dolayı serbest radikal reaksiyonlarına kolayca girmesi önlenmiş olur. Hidrojen atomunun zincirden çıkarılması, karbon atomu üzerinde eşleşmemiş bir elektron bıraktığında, karbon merkezli bir radikal oluşumuna yol açar. Bu radikal sıklıkla konjuge dien şekline çevrilir ve sonra moleküler oksijenle reaksiyona girerek peroksi radikali (LOO) oluşur. Bu peroksi radikali diğer bir peroksi radikaliyle birleşebilir veya membran proteinleriyle etkileşebilir. Burada önemli olan, peroksi radikallerinin membrandaki komşu yan zincirlerden H atomlarını çıkararak peroksidatif zincir reaksiyonunu yayabilmeleridir.

Lipid peroksidasyonunun inhibisyonu için fosfolipaz A<sub>2</sub> gerekir. Hücre membranlarında bol miktarda poliansatüre yağ asitleri (PUFA) bulunur, bunlar özellikle beyinde serbest radikal ataklarına yatkındır (24). Membran hasarının nasıl onarıldığı tam açık değildir, fakat olası bir mekanizma şudur: PLA<sub>2</sub> peroksidlenmiş yağ

asitlerini membrandan hidrolize eder. Böylece peroksidlerin serbest radikallere yıkımını önler ve hasarlı membran fosfolipidlerini temizler.

Lipid peroksidasyonu birçok yolla kantitatif olarak belirlenebilir. Alkanlar gibi son ürünler (etan, pentan) soluk havasında ölçülebilir. Ana yıkım ürünü olan malondialdehit (MDA)'in tiyobarbitürik asitle oluşturduğu renkli kompleks, kolorimetrede ölçülebilir. MDA'dan başka birçok aldehit oluşabilir. Son zamanlarda en çok 4 hidroksi-2,3-trans-nonenal üzerinde durulmaktadır. PUFA yıkımına ait ölçülebilen diğer lipid peroksidasyon markerleri; dien veya trien konjuge lipid hidroperoksidler, aldehitler ve karbonil dienleridir (25,26).

$O_2^{\cdot-}$ 'nin lipid hidroperoksidlerle (LOOH) reaksiyonu ile yeni radikal reaksiyonları başlayabilir.



Bu reaksiyonla lipid peroksidler oluştukları yerden uzak bölgelerde hasara sebep olabilirler. Benzer şekilde 4 hidroksi-2,3-trans-nonenal'da olduğu yerden diğer hücre kompartmanlarına göçebildiği ve oralarda hasar başlatabildiği için bir "toksikolojik ikincil haberci" olarak isimlendirilmiştir.

Son zamanlarda lipid peroksidasyonunun, Na-K ATPase'in ATP'e afinitesini modifiye ettiğine dair bir mekanizma tanımlanmıştır (27). Serbest radikallerin başlattığı peroksidasyonun normal yaşlanmayla ilgili membran hasarında, serebral hipoksi ve iskemi gibi patolojilerle ilişkili membran hasarlarında etkili olduğu ileri sürülmüştür (4).

Serbest radikal atağı sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılabilir; 1-Aminoasitlerin modifikasyonu 2-Proteinlerin fragmentasyonu 3-Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalar. Aromatik aminoasitlerde (Fenil alanin, tirozin, triptofan) doymamış yapılar bulunduğundan oksidatif ataklara çok hassastırlar. Sülfürlü aminoasitler olan sistein ve sistin de serbest radikal atağına hassas aminoasitlerdendir. Radikaller membran proteinleri ile de reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarını bozarlar.

DNA peroksidasyonu iyonizan radyasyona bağlı oluşabilir. Pirimidinler (timin) özellikle hassastır, takiben purinler ve deoksiriboz gelir. DNA hatatlarının kopmasına sebep olur. DNA çift sarmalı ayrılması kromozomal delesyona veya aberran gen ifadesine sebep olarak hücre ölümüne yol açabilir (4). DNA molekülleri nükleusta bulunur ve sıkı heliks yapısında düzenlenmiştir. Bundan dolayı serbest radikallerle temasa bağlı değişimler azdır. Ayrıca DNA molekülünün çoğu histonlarla korunur. Şayet hasar olursa tamir edici enzim sistemlerince tamir edilir (28).

### Antioksidan Enzimler ve Radikal Toplayıcılar

Süperoksid dismutaz (SOD)'lar bir grup metalloenzimdir. Süperoksid radikalının  $H_2O_2$ 'ye dönüşümünü katalizler. SOD'un iki temel formu vardır. SOD-1: Cu-Zn SOD, sitoplazmada bulunur. SOD-2: Mn SOD, mitokondride bulunur. Oluşan  $H_2O_2$ , GPx veya katalaz ile suya indirgenir. Katalaz,  $H_2O_2$ 'ye spesifiktir, diğer organik peroksidlere etki etmez. Selenyum bağımlı GPx  $H_2O_2$  ve organik hidroperoksidlerin glutatyon tarafından indirgenmesini katalize eden birçok peroksidazdan biridir. Sitozol veya mitokondride bulunabilir. Diyetteki selenyum desteği enzim aktivitesini modüle eder. Enzim aktivitesi, pentoz fosfat şantında üretilen NADPH ile bağımlıdır. Düşük konsantrasyonlardaki  $H_2O_2$ , öncelikle GPx tarafından temizlenir. Hidrojen donörü olarak GSH kullanılır (29). Bu reaksiyon GSH'in okside formu olan GSSG'e dönüşmesine yol açar. Yeterli GSH düzeyleri, Glutatyon Redüktaz tarafından sağlanır, GSSG'den GSH üretilir (30).

Katalaz aerobik hücrelerin çoğunda bulunur. Hem bulduran bir enzimdir. Bir molekül  $H_2O_2$  elektron verici, bir molekül  $H_2O_2$  de oksidan veya elektron alıcı olarak kullanılabilir.

Enzimlerin dışında, doku hasarına yol açmadan serbest radikalleri bastırmaya yönelik önemli rol oynayan birçok küçük molekül de vardır. Ekstra bir elektron alarak radikalleri detoksifiye ederler ve kendilerinden daha az toksik radikaller oluşur (31).

Pineal bezin hormonu olan melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin), çok güçlü ve etkili bir endojen radikal toplayıcısıdır. Toksik hidroksil radikalleri ile reaksiyona girerek, bütün hücre kompartmanlarındaki biyomolekülleri, oksidatif hasara karşı bölgesel olarak yerinde korur. Çok

reaktif olan hidroksil radikallerinin yıkıcı etkilerine karşı primer nonenzimatik savunma mekanizmasını oluşturur. Melatoninin yüksek difüzyon yeteneği, radikal toplayıcı etkisi için çok önemlidir. Bu sayede bütün hücrelere ve hücre kompartmanlarına girebilir. Nükleusa bağlanarak DNA'yı yerinde koruyucu etki gösterir. Hidroksil radikali toplayıcı etkisi dışında melatonin ayrıca Gpx'i de stimüle eder. Böylece hidroksil radikali öncülü olan hidrojen peroksiti suya çevirerek ikinci bir etki gösterir.

C vitamini suda çözünebilir bir toplayıcıdır, kendisi dihidroaskorbata dönüşerek, serbest radikalleri indirger. Özellikle E vitamini (ArOH) ve C vitamini zincir kırıcı antioksidanlar olarak sayılabilirler (32). Vitamin E serbest radikali rezonans sabitliği gösterir ve nisbeten az reaktiftir. İkinci bir peroksi radikali ile reaksiyona girebilir ve nonradikal ürünler oluşur. E vitamini, membrana bağlı GSH bağumlu Vitamin E serbest radikal redüktaz tarafından onarılabılır (33). E vitamini lipid faz içerisinde etkilidir. Özellikle membran fosfolipidlerini serbest radikal ataklarından korumada önemlidir. E vitamininin membranın birçok değişik yerinde özellikle de serbest radikal oluşturan membrana bağlı enzimlere yakın yerlerde lokalize olduğuna inanılmaktadır (4).

Beta karoten, retina gibi bazı dokuların membranlarında yüksek konsantrasyonlarda birikebilir. Beta karoten hem uyarılmış türleri bastırır, hem de serbest radikallerle direk reaksiyona girer. A vitamininin tipik özelliği düşük oksijen basınçlarında fonksiyon görmesidir. E vitamini ile sinerjistik etki gösterir. Malondialdehit oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu inhibe edebilir (34). Antikanserojendirler (35).

Serbest radikalleri metabolize eden enzimler, toplayıcılar veya serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikal temizlenmesini arttıran maddelere antioksidanlar denir (36). SOD'da bir artış gözlenmesinin süperoksit radikali miktarında azalma ile koruyucu olması beklenir. Antioksidan enzimlerde yaşa bağlı değişiklikler olduğu bildirilmiştir (37). GPx azlığı veya serbest demir fazlalığı durumunda aşırı SOD'un etkisi ile oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hidroksil radikali oluşumuna ve artmış radikal hasara yol açabilir. Hidroksil radikalleri diğer radikallerden çok daha reaktiftir. Organik bileşiklerle reaksiyon hızı 10<sup>7</sup>-10<sup>10</sup> mol s<sup>-1</sup> dir. Yaşam süresi yaklaşık 1 mikrosaniyedir. Organik moleküllerle reaksiyona

girerek çevresindeki atom ve molekülleri okside eder (38).

Bilirubin hemoprotein katabolizma ürünüdür. Yüksek düzeylerde bir doku toksini olmasına rağmen, zincir kırıcı bir antioksidan olarak görev yapabilir (39,40).

### Kaynaklar

- 1-Bast A, Goris RJA. Oxidative stress. *Biochemistry and human disease. Pharm Weekbl* 1989; 11 (6): 199-206.
- 2-Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin* 1993; 49 (3): 481-93.
- 3-Lohr JB. Oxygen radicals and neuropsychiatric illness. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 48: 1097-106.
- 4-Jesberger JA, Richardson JS. Oxygen free radicals and brain dysfunction. *Intern J Neuroscience* 1991; 57: 1-17.
- 5-Mc Cord JM. Oxygen-derived free radicals. *New Horizons* 1993; 1 (1): 70-6.
- 6-Mc Cord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26 (5): 351-7
- 7-Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Rad Biol* 1994; 65 (1): 27-33.
- 8-Greenstock CL. Radiation and aging: free radical damage, biological response and possible antioxidant intervention. *Medical Hypotheses* 1993; 41 (5): 473-82.
- 9-Savoure N. Free radicals. *Allergie et Immunologie* 1993; 25 (10): 404-7.
- 10-Morooka H, Hirotsune N, Wani T, et al. Histochemical demonstration of free radicals in ischemic brain edema and protective effects of human recombinant superoxide dismutase on ischemic neuronal damage. *Acta Neurochirurgica* 1994; 60: 307-9.
- 11-Elstner EF. Oxygen radicals-Biochemical basis for their efficacy. *Klin Wochenschr* 1991; 69: 949-56.

- 12-Gutteridge JM. Biological origin of free radicals, and mechanism of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interaction* 1994; 91 (2-3): 133-40.
- 13-de Silva DM, Aust SD. Ferritin and ceruloplasmin in oxidative damage: review and recent findings. *Canadian Journal of Physiology Pharmacology* 1993; 71 (9): 715-20.
- 14-Stryer L. *Biochemistry*. Third edition. New York: WH Freeman, 1988: 406-7.
- 15-Keusch GT. Antioxidants in infection. *J Nutr Sci Vit* 1993; 39: 23-33.
- 16-Chopineau J, Sommier MF, Sautou V. Evaluation of free radical production in an ischaemia-reperfusion model in the rabbit using a tourniquet. *J Pharm Pharmacol* 1994; 46 (6): 519-20.
- 17-Oredsson S, Plate G, Qarfordt P. Experimental evaluation of oxygen free radical scavengers in the prevention of reperfusion injury in skeletal muscle. *Eur J Surg* 1994; 160 (2): 97-103.
- 18-Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *British J Surgery* 1994; 81 (5): 637-47.
- 19-Das DK, Maulik N. Antioxidant effectiveness in ischaemia-reperfusion tissue injury. *Methods in Enzymology* 1994; 233: 601-10.
- 20-Ward A, Mc Burney A, Lunec J. Evidence for the involvement of oxygen derived free radicals in ischaemia-reperfusion injury. *Free Radical Research* 1994; 20 (1): 21-8.
- 21-Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants. *American Pharmacy* 1994; 34 (9): 26-35.
- 22-Sipe HJ, Jordan SJ, Hanna PM, et al. The metabolism of 17 beta estradiol by lactoperoxidase: a possible source of oxidative stress in breast cancer. *Carcinogenesis* 1994; 15 (11): 2637-43.
- 23-Cheeseman KH. Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Molecular Aspects of Medicine* 1993; 14 (3): 191-7.
- 24-Penzen L, Fischer HD, Noble RC. Some aspects on the relationship between lipids, neurotransmitters, and aging. *Zeitschrift fur Gerontologie* 1993; 26 (2): 65-9.
- 25-Babizhayev MA, Costa EB. Lipid peroxide and reactive oxygen species generating systems of the crystalline lens. *Biochimica Biophysica Acta* 1994; 1225 (3): 326-37.
- 26-Bhuyan KC, Bhuyan DK, Chiu W, et al. Deferal-Mn (III) in the therapy of diquat-induced cataract in rabbit. *Arch Biochem Biophysics* 1991; 288 (2): 525-32.
- 27-Aydin S, Arıcıoğlu A, Türközkan N, et al. Na-K ATPase activity of rabbit kidney cortex membranes in ischemia and reperfusion. *Acta Biochimica Polonica* 1993; 40 (4): 545-7.
- 28-Satoh MS, Lindahl T. Enzymatic repair of oxidative DNA damage. *Cancer Research* 1994; 54 (7): 1899-901.
- 29-Siems WG, van Kuijk EJ, Maas R. Uric acid and glutathion levels during short term whole body cold exposure. *Free Rad Biol Med* 1994; 16 (3): 299-305.
- 30-Kehrer IP, Lund LG. Cellular reducing equivalents and oxidative stress. *Free Rad Biol Med* 1994; 17 (1): 65-75.
- 31-de Groot H. Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepato-Gastroenterology* 1994; 41 (4): 328-32.
- 32-Burton GW. Vitamin E: Molecular and biological function. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1994; 53 (2): 251-62.
- 33-Banda M, Obazava H. Soluble ascorbate free radical reductase in the human lens. *Japanese J Ophthalmology* 1994; 38 (1): 1-9.
- 34-Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta carotene, and other carotenoids. *Ann New York Acad Sci* 1992; 669: 7-20.
- 35-Sharma S, Stutzman JD, Kelloff GJ, et al. Screening of potential chemopreventive agents using biochemical markers of carcinogenesis. *Cancer Research* 1994; 54 (22): 5848-55.

- 36-Halliwell B. *Free radicals and antioxidants: a personal view. Nutrition Reviews* 1994; 52 (8): 253-65.
- 37-Sözmen EY, Onat T, Tanyalçın T, Erlaçın S. *Eritrositer antioksidan enzimlerde yaşa bağlı değişiklikler.* 1993; 18(3): 83-5.
- 38-Srivastava SK, Ansari NH, Liu S, et al. *The effect of oxidants on biomembranes and cellular metabolism. Mol Cell Biochem* 1989; 91:149-57.
- 39-Hegvi T, Goldie E, Hiatt M. *The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. Journal of Perinatology* 1994; 14 (4): 296-300.
- 40-Bervoets K, Schlenzing JS, Bohles H. *Bilirubin in the early neonatal period. Is there a positive aspect of hyperbilirubinemia? A medical hypothesis. Fortschritte der Medizin* 1994; 112 (13): 192-4.

Yazışma Adresi:

Yrd.Doç.Dr. Namık Delibaş  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı

32040/ISPARTA