

## Tianeptinin Sıçanlarda İskemi Reperfüzyonla Oluşturulan Oksidatif Böbrek Hasarına Etkisi

Bahadır SÜLEYMAN\*, Aslı ÖZBEK BİLGİN, Renad MAMMADOV

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzincan, Türkiye

Geliş / Received: 10/05/2018, Kabul / Accepted: 08/08/2018

### Öz

Böbrek iskemii-reperfüzyon (İ/R) hasarı şok, travma ve böbrek transplantasyonu gibi majör cerrahi durumları takiben gelişebilmektedir ve akut böbrek yetmezliğine neden olmaktadır. Böbrek İ/R hasarının, dokunun oksijensiz kalması ile başlayan ve serbest oksijen radikallerinin üretimi ile devam eden patolojik bir süreç olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda böbrek İ/R hasarına etkisini araştıracağımız tianeptin, antioksidan özelliğe sahip atipik antidepresan bir ilaçtır. Literatürlerde tianeptinin, İ/R ile oluşturulan böbrek hasarına karşı etkisine ait bilgilere rastlanmadı. Çalışmamızın amacı tianeptinin, sıçanlarda İ/R ile oluşturulan oksidatif böbrek hasarına etkisini araştırmaktır. Albino wistar türü erkek sıçanlar renal iskemii-reperfüzyon (RİR), 25 mg/kg tianeptin+renal iskemii-reperfüzyon (TİR-25) ve şam operasyonu uygulanacak (SG) gruplara ayrıldı. İ/R işlemi (bir saat iskemii, üç saat reperfüzyon), 25 mg/kg intraperitoneal tiopental sodyum anestezisi uygulanarak yapıldı. Oksidatif hasar böbrek dokusunda malondialdehid (MDA) ve total glutatyon (tGSH) ölçümü ile değerlendirildi. Biyokimyasal deney sonuçları, İ/R işleminin böbrek dokusunda MDA miktarının artmasına tGSH'nin ise azalmasına neden olduğunu göstermiştir. Tianeptinin, böbrek dokusunda MDA'nın İ/R ile artmasını ve tGSH'nin azalmasını anlamlı önlediği saptanmıştır. Deney sonuçlarımız, tianeptinin İ/R ile indüklenen oksidatif böbrek hasarını önlemede yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Tianeptin, İskemi/Reperfüzyon, Böbrek, Malondialdehid, Total glutatyon

## Effect of Tianeptine on Oxidative Renal Damage Induced by Ischemia Reperfusion in Rats

### Abstract

Renal ischemia-reperfusion (I/R) damage can develop following major surgical conditions such as shock, trauma, and renal transplantation and causes acute renal failure. Kidney I/R damage is known to be a pathological process that begins with the touch free of oxygen and continues with the production of free oxygen radicals. We will investigate the effect of renal I/R injury on tianeptine, an atypical antidepressant drug with antioxidant properties. There was no information on the effect of tianeptine on I/R-induced kidney damage in the literature. The aim of the present study was to investigate the effect of tianeptine on oxidative kidney damage induced by I/R in rats. Albino wistar male rats were divided into groups as renal I/R (RIR) group, 25 mg/kg of thianeptine+renal I/R (TIR-25) group and sham operation (SG) group. The I/R procedure (one hour ischemia, three hours reperfusion) was performed with 25 mg/kg intraperitoneal thiopental sodium anesthesia. Oxidative damage was assessed by malondialdehyde (MDA) and total glutathione (TGSH) measurements in kidney tissue. Biochemical test results showed that the I/R process increased the amount of MDA in the kidney tissue and decreased the tGSH. Tianeptine significantly prevented the increase of MDA and decrease of tGSH in kidney tissue after I/R. Our experimental results suggest that tianeptine may be useful in preventing I/R-induced oxidative renal injury.

**Keywords:** Tianeptine, Ischemia/Reperfusion, Kidney, Malondialdehyde, Total glutathione

### 1. Giriş

İskemi, bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle azalması veya tamamen kesilmesi sonucu dokunun oksijensiz kalması durumudur. Reperfüzyon ise iskemili dokunun yeniden kanlanmasıdır. İskemi, dokularda belirli bir süre sonra hasara yol

açmaktadır. Bu nedenle, iskemili dokuya ilk yapılacak müdahale dokunun yeniden kanlanmasını sağlamaktır. Ancak, iskemili dokunun reperfüzyonu iskemik hasarın genişlemesine neden olmaktadır (Douzinas vd., 2012). Böbrek iskemii-reperfüzyon (İ/R) hasarı ise şok, travma ve böbrek

transplantasyonu gibi major cerrahi durumları takiben gelişebilmektedir (Baron vd., 1991). Böbrek İ/R hasarı akut böbrek yetersizliği, yüksek mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır (Lien vd., 2003). İ/R hasarının patogenezi ve tedavisine yönelik çok sayıda araştırmalar bulunsa da mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak, İ/R hasarın şiddeti, reperfüzyon sonucu oluşan hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) hidroksil radikali (OH<sup>-</sup>), hipoklorit, peroxynitrit, lipid peroxyl radikalleri gibi oksidanların üretiminin artmasıyla doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (Şener vd., 2006). Bu bilgiler, böbrek İ/R hasarının dokunun oksijensiz kalması ile başlayan ve serbest oksijen radikallerinin (SOR) üretimi ile devam eden patolojik bir süreç olduğunu ortaya koymaktadır. İ/R hasarının spesifik bir tedavi rejimi bulunmamakla birlikte antioksidan tedavinin yararlı olduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (Alataş vd., 1996). Çalışmamızda böbrek İ/R hasarına etkisini araştıracağımız tianeptin majör depresyon tedavisinde kullanılan atipik antidepresan bir ilaçtır (András, 2008). Literatürlerde, tianeptinin malondialdehid (MDA) inhibe ederek gastroprotektif etki oluşturduğu rapor edilmiştir; Ayrıca, dokuda total endojen antioksidan olan glutatyon (tGSH) seviyelerini koruduğu gösterilmiştir (Suleyman vd., 2009). Bu bilgiler, tianeptinin İ/R 'ye bağlı böbrek hasarını baskılamada yararlı olabileceğini işaret etmektedir. Literatürlerde tianeptinin, over I/R ya bağlı sekonder böbrek hasarını azalttığı bildirilmiştir (Karaca vd., 2017). Ancak, tianeptinin doğrudan İ/R ile oluşturulan oksidatif böbrek hasarına karşı etkisine ait bilgilere rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın amacı tianeptinin İ/R ile oluşturulan oksidatif böbrek hasarına etkisini araştırmaktır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada, Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen ve ağırlıkları 235-242 gram arasında değişen toplam 18 adet Albino Wistar türü erkek sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar deney öncesi

gruplar halinde normal oda sıcaklığında (22°C)'de barındırıldı ve beslendi. Çalışmamızın bütün aşamalarının etik kurula uygun olduğu, "Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu (AÜHADYEK)" tarafından verilen 28.02.2017 tarih ve 77040475-000-E.1700064319 sayılı yazı ile onaylanmıştır.

### 2.2. Kimyasal Maddeler

Deneyde kullanılan tianeptin Servier ilaç ve araştırma AŞ (Türkiye), Tiyopental Na ise İE ULAGAY (Türkiye)'den temin edildi.

### 2.3. Deney Grupları

Bu çalışmada deney hayvanları renal iskemireperfüzyon kontrol (RİR), 25 mg/kg tianeptin+renal iskemireperfüzyon (TİR-25) ve şam operasyonu uygulanacak sağlıklı gruplara (SG) ayrıldı.

### 2.4. Cerrahi ve Farmakolojik İşlemler

Sıçanlar üzerindeki iskemireperfüzyon sonrası reperfüzyon işlemleri steril şartlar altında, 25 mg/kg intraperitoneal (i.p.) tiopental sodyum anestezisi uygulanarak yapıldı. Tiopental sodyum anestezisinden bir saat önce hayvanların TİR-25 grubuna 25 mg/kg tianeptin oral yoldan sonda ile verildi. RİR ve SG sıçan gruplarına ise çözücü olarak distile su aynı yöntemle uygulandı. Anestezi döneminde tüm sıçanların sol böbreklerine tek taraflı dorsal kısımdan açılarak ulaşıldı. Daha sonra (SG grubu hariç) böbreğe gelen renal arter ve renal vene klips konularak bir saat boyunca iskemireperfüzyon oluşturuldu. Bu süre sonunda RİR ve TİR-25 sıçan gruplarına üç saat süreyle reperfüzyon sağlandı. Bu süre sonunda tüm sıçan grupları yüksek doz anestezisiyle öldürülerek İ/R işlemi uygulanan böbrekleri çıkartıldı. Çıkartılan böbrek dokularında malondialdehid (MDA) ve total glutatyon (tGSH) ölçüldü. TİR25ve SG gruplarından elde edilen biyokimyasal sonuçlar RİR gruplardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak değerlendirildi.

### 2.5. Biyokimyasal Analizler

#### 2.5.1. Malondialdehid (MDA) Ölçümü

MDA ölçümü MDA'nın sıcak asidik ortamda tiyobarbitürik asitle oluşturduğu rengin 532 nm'de optik dansitesinin ölçülmesi prensibine dayanan Ohkawa ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı. 25 µL örnek üzerine, 25 µL sodyum dodesil sülfat (80 g/L), 1 mL mix karışım (200 g/L asetik asit + 1.5 mL 8 g/L 2-tiyobarbitürik asit) eklenerek 95 °C'de 60 dakika ısıtıldı. Soğutulduktan sonra 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst tabakanın absorbanı 532 nm'de ölçüldü. Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiğinden numunedeki MDA miktarı hesaplandı (Ohkawa vd., 1979).

### 2.5.2. Total Glutasyon (tGSH) Ölçümü

tGSH analizi için Sedlak ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı. Renkli bir bileşik olan DTNB (5,5'-dithiobis [2-nitrobenzoic acid]) disülfür sülfidril grupları indirgenince sarı renkli bir bileşik oluşur ve bu 412 nm dalga boyunda ölçülür. Ölçüm için öncelikle deproteinizasyon için tüm örnekler 1:1 oranında meta fosforik asitle muamele edilip santrifüj edildi. Üst fazdan alınan alınan 50 µL süpernatantın üzerine 150 µL ölçüm karışımı (5.85 mL 100 mM Na-fosfat tamponu, 2.8 mL 1 mM DTNB 3.75 mL 1 mM NADPH, ve 80 µL 625 U/L Glutathione reductase) eklendi. GSSG ile hazırlanan standart grafiğe göre ölçümler 412 nm'de yapıldı (Sedlak vd., 1968).

### 2.6. İstatistiksel Analizler

Deneylerden elde edilen sonuçlar "ortalama değer ± standart sapma" ( $\bar{x} \pm SEM$ ) olarak ifade edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi one-way ANOVA testi kullanılarak belirlendi. Takibinde Fisher's post-hoc Tukey testi yapıldı. Tüm istatistiksel işlemler "SPSS for Windows, 20.0" istatistik programında yapıldı ve  $p < 0.05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi.

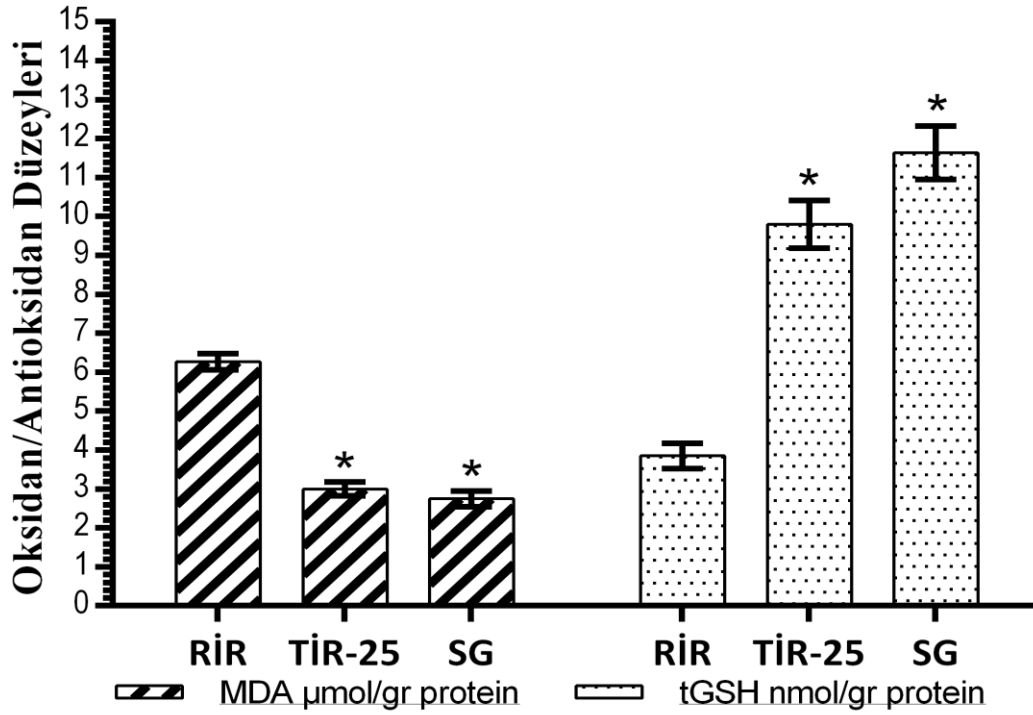
### 3. Bulgular

Sekil 1'den anlaşılacağı gibi, sağlıklı hayvanların böbrek dokusunda MDA miktarının ortalaması  $2.7 \pm 0.2$  µmol/gr protein iken, İ/R uygulanan hayvanların böbrek dokusunda  $6.3 \pm 0.2$  µmol/gr protein olarak ölçülmüştür. İ/R işlemi uygulanmadan önce tianeptin verilen hayvanların böbrek dokularında MDA miktarı  $3 \pm 0.2$  µmol/gr protein olmuştur. İ/R uygulanan hayvanların böbrek dokusunda MDA miktarı sağlıklı ve tianeptin uygulanan gruplarınkine göre anlamlı ( $p < 0.0001$ ) artış gösterirken, sağlıklı ve tianeptin grubunda MDA miktar farkı anlamsız ( $p > 0.05$ ) bulundu.

Sağlıklı hayvanların böbrek dokusundaki tGSH miktarının ortalaması  $11.6 \pm 0.7$  nmol/gr protein olmuştur. İ/R uygulanan grupta ise tGSH miktarı  $3.8 \pm 0.3$  nmol/gr protein olarak azalmıştır. Ancak, tianeptin grubunda tGSH miktarı  $9.8 \pm 0.6$  nmol/gr protein olmuştur. İ/R grubundaki tGSH miktarı sağlıklı ve tianeptin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.0001$ ) yükselmiştir. Ancak sağlıklı ve tianeptin grubundaki tGSH miktarları arasındaki fark anlamsız ( $p > 0.05$ ) bulunmuştur (Şekil 1).

### 4. Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada, tianeptinin böbrek iskemi İ/R hasarına etkisi biyokimyasal olarak araştırıldı. Deney sonuçlarımız, İ/R uygulanan hayvanların böbrek dokusunda MDA düzeyinin sağlıklı ve tianeptin grubuna göre anlamlı yükseldiğini, tGSH'nın ise azaldığını ortaya koymuştur.



Şekil 1. RİR, TİR-25 ve SG çalışma gruplarının böbrek dokularında MDA ve tGSH düzeyleri. TİR-25 ve SG grubu RİR ile karşılaştırıldı (n=6, \*p<0.0001).

Bilindiği gibi, MDA lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için kullanılan bir oksidan parametredir (Harman, 2001). İ/R olayında MDA miktarının artması, lipid peroksidasyonunun indüklendiğini göstermektedir. Oksidatif hasar olarak bilinen bu olay, doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri (SOR) tarafından oksitlenmesi sonucu meydana gelir (Hermes vd., 2002). Serbest oksijen radikalleri süperoksit anyonu ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), hidroksil radikalleri ( $\cdot\text{OH}$ ), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) hipoklorik asit ( $\text{HOCl}$ ) ve nitrik oksitten oluşan peroksinitrit gibi stabil olmayan moleküllerdir (Toyokuni, 1999). Literatürlerde, bu SOR'lar reperfüzyon mediatörleri olarak bilinir (Del, 1980). Bundan önce MDA'nın İ/R uygulanmış böbrek dokusunda artış gösterdiğini rapor eden çok sayıda deneysel çalışmalar bulunmaktadır (Altuner vd., 2013; Cetin vd., 2014; Torres vd., 2018).

Çalışmamızda, MDA miktarı yüksek bulunan İ/R uygulanmış böbrek dokusunda endojen tGSH miktarı sağlıklı ve tianeptin grubuna göre düşük bulunmuştur. GSH glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan çok önemli bir endojen antioksidandır. GSH, hücreleri hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ),

süperoksit ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), alkoksil ( $\text{RO}\cdot$ ) radikallerin oksidatif hasarına karşı korumada önemli rol oynar (Meister vd., 1983). Antioksidanlar, canlı vücudunda SOR'ların yol açtığı hasarı ortadan kaldıran en önemli savunma mekanizmalarından biridir. Fakat, antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kaldığında, dokularda ciddi hasar oluşur (Young vd., 2001). GSH, SOR'larla reaksiyona girerek ve proteinlerdeki sülfhidril ( $-\text{SH}$ ) gruplarını redükte halde tutarak hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Larson, 1988). Ayrıca, GSH'nin canlı organizmada oksido-redüksiyon dengeyi sürdürüp hücreleri endojen ve eksojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden koruduğu bildirilmiştir (Mitchell et al, 1987). Son zamanlarda, İ/R hasar şiddetini GSH'nin azalması ile ilişkilendiren çok sayıda yeni deneysel çalışmalar bulunmaktadır (Abou vd., 2018; Choucry vd., 2018; Liu vd., 2015). Deneysel sonuçlarımız ve literatürlerden edinilen bilgiler, İ/R işleminin böbrek dokusunda oksidan antioksidan dengeyi oksidanların lehine değiştirdiğini göstermektedir.

Böbrek İ/R hasarına karşı koruyucu etkisi araştırılan tianeptin, hayvanların böbrek dokusunda oksidan antioksidan dengeyi

oksidanların lehine değişmesini önlemiştir. Tianeptin, böbreklerde İ/R döneminde artan MDA'yı anlamlı azaltmış, tGSH'nin da azalmasını anlamlı olarak baskılamıştır. Literatürlerde tianeptinin İ/R ile indüklenen oksidatif böbrek hasarına etkisi ile ilgili bilgilere rastlanmadı. Ancak, tianeptinin mide dokusunda MDA artışını inhibe ederek ve tGSH seviyelerini koruyarak gastroprotektif etki oluşturduğu rapor edilmiştir (Suleyman vd., 2009). Yine bir başka çalışmada, tianeptinin doza bağımlı olarak beyin dokusunda oksidatif stresi baskıladığı ve pentilenetetrazol indüklenen epilepsi nöbetlerini azalttığı gösterilmiştir (Reeta vd., 2016). Sonuç olarak; İ/R işlemi böbrek dokusunda oksidan antioksidan dengeyi oksidanların lehine değiştirmiştir. Tianeptin, böbrek dokusunda oksidan antioksidan dengenin İ/R ile oksidanların lehine değişmesini önlemiştir. Bu bilgiler, tianeptinin İ/R ile indüklenen oksidatif böbrek hasarını önlemede yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

## 5. Kaynaklar

Abou, H.H.O., Atef, H., Said, E., Elkashef, H.A., Salem, H.A. 2018. Crocin reverses unilateral renal ischemia reperfusion injury-induced augmentation of oxidative stress and toll like receptor-4 activity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 59(4), 182-189.

Alataş, Ö., Şahin, A., Çolak, Ö., Inal, M., Köken, T., Yaşar, B., Karahüseyinçlı, E. 1996. Beneficial effects of allopurinol on glutathione levels and glutathione peroxidase activity in rat ischaemic acute renal failure. *Journal of International Medical Research*, 24(1), 33-39.

Altuner, D., Cetin, N., Suleyman, B., Aslan, Z., Hacimuftuoglu, A., Gulaboglu, M., Suleyman, H. 2013. Effect of thiamine pyrophosphate on ischemia-reperfusion induced oxidative damage in rat kidney. *Indian Journal of Pharmacology*, 45(4), 339.

András, S. 2008. " Atypical" antidepressive mechanisms: glutamatergic modulation and neuroplasticity in case of tianeptine.

Neuropsychopharmacologia Hungarica, 10(5), 305-313.

Baron, P., Gomez, M.O., Casas, C., Heil, J., Will, N., Condie, R., Sutherland, D. E. 1991. Renal preservation after warm ischemia using oxygen free radical scavengers to prevent reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*, 51(1), 60-65.

Cetin, N., Suleyman, H., Sener, E., Demirci, E., Gundogdu, C., Akcay, F. 2014. The prevention of ischemia/reperfusion induced oxidative damage by venous blood in rabbit kidneys monitored with biochemical, histopathological and immunohistochemical analysis. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 65(3), 383-392.

Choucry, M.A., Khalil, M.N.A., El Awdan, S.A. 2018. Protective action of *Crateva nurvala* Buch. Ham extracts against renal ischaemia reperfusion injury in rats via antioxidant and anti-inflammatory activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 214(5), 47-57.

Del, R.F.M. 1980. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiologica Scandinavica Supplementum*, 492(1), 153-168.

Douzinias, E.E., Livaditi, O., Tasoulis, M.K., Prigouris, P., Bakos, D., Goutas, N., Tsoukalas, G.D. 2012. Nitrosative and oxidative stresses contribute to post-ischemic liver injury following severe hemorrhagic shock: the role of hypoxemic resuscitation. *PLoS One*, 7(3), 329-68.

Harman, D. 2001. Aging: overview. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 928(1), 1-21.

Hermes, L.M., Zenteno, S.T. 2002. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology Pharmacology*, 133(4), 537-556.

Karaca, I., Delibas, I.B., Yapca, O.E., Ingeç, M., Kumbasar, S., Hirik, E., Bilgin, A.O. 2017. Oxidative Renal Damage in Rats Subjected to Ovarian Ischemia Reperfusion and Protective Effect of Tianeptine. *Latin American*

- Journal of Pharmacy, 36(12), 2339-2347.
- Larson, R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27(4), 969-978.
- Lien, Y.H.H., Lai, L.W., Silva, A.L. 2003. Pathogenesis of renal ischemia/reperfusion injury: lessons from knockout mice. *Life sciences*, 74(5), 543-552.
- Liu, Z.G., Qi, Z.C., Liu, W.L., Wang, W.Z. 2015. Lutein protects against ischemia/reperfusion injury in rat kidneys. *Molecular Medicine Reports*, 11(3), 2179-2184.
- Meister, A., Anderson, M.E. 1983. Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*, 52(1), 711-760.
- Mitchell, B.J., Russo, A. 1987. The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity. *The British Journal of Cancer Supplement*, 55(8), 96-104.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Reeta, K., Prabhakar, P., Gupta, Y.K. 2016. Anticonvulsant activity of the antidepressant drug, tianeptine, against pentylenetetrazole-induced seizures mitigates cognitive impairment in rats. *Behavioural Pharmacology*, 27(7), 623-632.
- Sedlak, J., Lindsay, R.H. 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 25(1), 192-205.
- Suleyman, H., Cadirci, E., Albayrak, A., Polat, B., Halici, Z., Koc, F., Bayir, Y. 2009. Comparative study on the gastroprotective potential of some antidepressants in indomethacin-induced ulcer in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 180(2), 318-324.
- Şener, G., Tuğtepe, H., Yüksel, M., Çetinel, Ş., Gedik, N., Yeğen, B.Ç. 2006. Resveratrol improves ischemia/reperfusion-induced oxidative renal injury in rats. *Archives of Medical Research*, 37(7), 822-829.
- Torres, G.L., Cienfuegos, P.E., Perales, Q.M.M., Alarcon, G.G., Muñoz, E.L.E., Pérez, R.E., Cordero, P.P. 2018. Nephroprotective Effect of *Sonchus oleraceus* Extract against Kidney Injury Induced by Ischemia-Reperfusion in Wistar Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 9572803, 7p.
- Toyokuni, S. 1999. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathology International*, 49(2), 91-102.
- Young, I., Woodside, J. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176-186.