

## Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri

### *Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA*

Oğuzhan Özcan<sup>1</sup>, Hüseyin Erdal<sup>2</sup>, Gökhan Çakırca<sup>1</sup>, Zafer Yönden<sup>1</sup>

#### ÖZET

Oksidatif stres, hücresel metabolizma sırasında oluşan hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin artışı (ROS) ile onları detoksifiye eden, antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanır. Oksidatif streste artış sonucunda oluşan reaktif oksijen türleri hücre içi lipit ve protein yapıların çift bağ içeren gruplarına ve DNA'daki bazların çift bağlarına saldırır ve bir hidrojen atomu kopararak zincirleme oksidasyon reaksiyonlarını başlatırlar. Sonuçta hücre içi lipit, protein ve DNA gibi makromoleküller hasarlanarak hücre zedelenmesi veya hücre ölümü meydana gelir. Serbest radikallerin etkileri ile makromoleküllerin oksidatif hasarı sonucunda açığa çıkan malondialdehit (MDA), protein karbonil (PCO), 8-hidroksiguanin (8-OHG) gibi ürünlerin vücut sıvıları ve dokularda biyokimyasal yöntemlerle ölçülmesi ile oksidatif hasar varlığı tespit edilir.

Son yıllarda bu alanda gittikçe artan sayıda çalışmaya rağmen halen oksidatif stresin hücre içi yapılar üzerine etkisi bütün yönleriyle bilinmemektedir. Bu derlemede oksidatif stresin oluşum mekanizması, antioksidan sistemler ve etki mekanizmaları, hücre içi yapılara olan etkileri ve oksidatif streste oluşan yıkım ürünlerinin biyokimyasal yönden değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Oksidatif stres, protein karbonil, malondialdehit, 8-hidroksiguanin

#### GİRİŞ

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller ile bunlara karşı süpürücü etkiye sahip antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır (Şekil 1). Reaktif oksijen türleri oldukça yüksek reaktiviteye sahip moleküller olup başta mitokondriyum olmak üzere hücre organellerinde

#### ABSTRACT

Oxidative stress is described as disturbed oxidative balance between increased reactive oxygen species such as hydroxyl radical (OH•), superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) which occurs during normal cellular metabolism and decreased antioxidants which have scavenging effects on free radicals. Reactive oxygen species resulted from increased oxidative stress attacks on to the double bonds of lipids, proteins and DNA bases, removing one hydrogen atom from structure and initiate to oxidative chain reactions. This process leads to cellular damage and death damaging intracellular macromolecules such as lipids, proteins and DNA. The damage of free radicals is detected measuring oxidative products such as malondialdehyde (MDA), protein carbonyl (PCO) and 8-hydroxyguanine derivatives (8-OHG, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin) in body fluids and various tissues.

Although considerable amount of studies in this field, the effects of oxidative stress on cellular structures still remain unknown. In this review, we aimed to evaluate the biochemical aspects of oxidative stress, antioxidant systems and their mechanism of actions and oxidative products. *J Clin Exp Invest* 2015; 6 (3): 331-336

**Key words:** Oxidative stress, protein carbonyl, malondialdehyde, 8-hydroxyguanine

gerçekleşen normal metabolizmanın sonucu olarak veya iskemi-reperfüzyon, yaşlanma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, inflamasyon ve kimyasal ajanlara maruz kalma gibi sebepler bağlı olarak üretilirler [1-3]. Oksidatif stres, başta kanser olmak üzere diyabet, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar, ateroskleroz ve inflamatuvar bozukluklar gibi birçok hastalığın patogenezinde sorumludur [4-7].

<sup>1</sup> Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Hatay, Türkiye

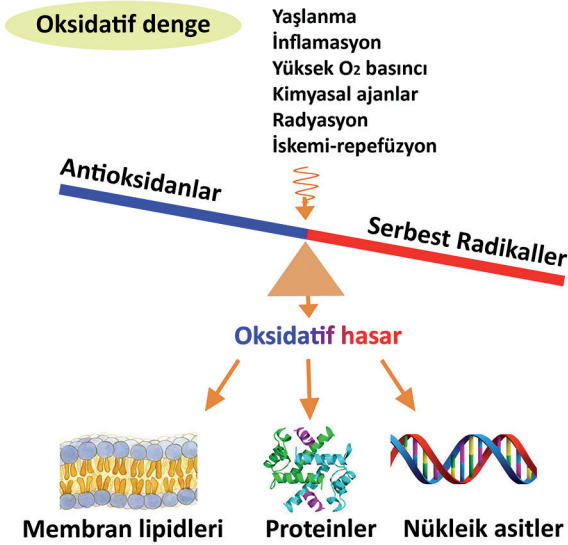
<sup>2</sup> Mustafa Kemal Üniversitesi, Moleküler Biyokimya ve Genetik AD, Hatay, Türkiye

**Correspondence:** Oğuzhan Özcan,

Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Hatay, Türkiye Email: drozan29@hotmail.com

Received: 20.07.2015, Accepted: 16.08.2015

Copyright © JCEI / Journal of Clinical and Experimental Investigations 2015, All rights reserved

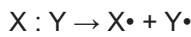


Şekil 1. Oksidatif denge

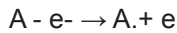
## SERBEST RADİKAL

Dış yörüngelerinden birinde eşleşmemiş elektron içeren bileşiklerdir. Reaktif ve kısa ömürlüdürler. Serbest radikaller, normal bir metabolizmanın devamı olarak veya hücrede enerji üretimi için gerekli olan birçok reaksiyon tarafından üretilmektedir. Serbest radikallerin başlıca 3 yolla meydana geldiği kabul edilmektedir [8].

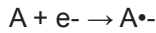
- Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birinin kalarak homolitik bölünmesi.



- Normal bir molekülün bir elektronun kaybına uğraması



- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



Üretilen bu radikaller membran lipitlerine, hücre içi proteinlere ve nükleik asitlere etki ederek bu makromoleküllerin yapı ve fonksiyonları üzerinde değişikliklere yol açtığı ve hücre hasar meydana getirdiği iyi bilinmektedir.

## REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ (ROS)

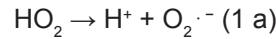
Atmosferde bulunan oksijen, moleküler oksijen (O<sub>2</sub>) veya dioksijen olarak adlandırılır.

Normal oksijenin az bir kısmı başlıca mitekondri olmak üzere hücrel kompartımanlardaki metaboliz-

ma sırasında indirgenerek reaktif oksijen türlerine dönüşür. Başlıca reaktif oksijen türleri Süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>), Hidroksil radikali (OH<sup>·</sup>) ve Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'dir. Bunlardan ilk ikisi serbest radikal olup hidrojen peroksit ise prooksidan'dır [9].

## Süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>)

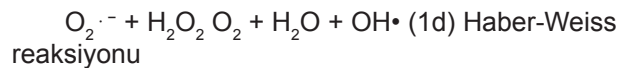
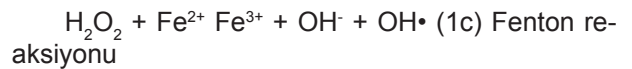
Aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O<sub>2</sub>) bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşurlar. Özellikle elektronca zengin bir ortam olan iç mitokondri zarında ve ksantin oksidaz gibi flavoenzimlerle endojen olarak oluşturulur (1a).



Ayrıca indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir (1b) [10].

## Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Serbest radikal olmadığı halde ROS kapsamına girer ve serbest radikal oluşumunda önemli rol oynar. Hücrel kompartımanlarda bulunan ürat oksidaz, glikoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi birçok enzim iki elektronun oksijene transferi ile direkt olarak hidrojen peroksit oluşturulur. Fe<sup>2+</sup> veya diğer geçiş metallerinin (Fenton reaksiyonu) ve süperoksit radikalının (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) varlığında (Haber-Weiss reaksiyonu) en güçlü radikal olan hidroksil radikalini (OH<sup>·</sup>) oluşturur [11,12].



Hidrojen peroksit, süperoksit radikalinden farklı olarak yağda çözünür olduğundan oluştuğu yerden uzakta olan ve Fe<sup>2+</sup> içeren hücrel membranlarda da hasar oluşturabilir.

## Hidroksil radikali (OH<sup>·</sup>)

Son derece reaktif radikallerdir, yarılanma ömrü 10<sup>-9</sup> saniye olup oldukça kısadır ve ROS'ların en güçlüsüdürler [13]. Hidroksil radikali, geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır (1c ve d).

Oluşturduğu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikaller oluşturur ve sonuçta hücrede hasara neden olur [14].

## ANTIOKSİDANLAR

Biyolojik sistemlerde genel olarak serbest radikallerin daha spesifik bir alt grup olarak ise ROS'un hücre yapılara vereceği hasarı engellemek için antioksidan sistemler veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan savunma mekanizmaları mevcuttur. Endojen (antioksidan enzimler vb.) ve Ekzojen (vitaminler vb.) olmak üzere iki grupta sınıflandırılır [15].

### Antioksidanların etki mekanizmaları;

- Oksijeni ortamdan uzaklaştırır veya lokal olarak bulunduğu yerde konsantrasyonunu azaltırlar
- Katalitik metal iyonlarını ortamdan uzaklaştırırlar
- Süperoksit veya hidrojen peroksit gibi anahtar role sahip ROS'u ortamdan uzaklaştır veya daha zayıf moleküllere çevirirler.
- Serbest radikal hasarına yol açan zincirleme reaksiyonların başlamasını engellerler.
- Serbest radikallere bağlı oluşan hasarı onarıcı etkiler gösterirler.

Ekzojen ve endojen antioksidan türleri ve etki mekanizmaları Tablo 1 ve 2' gösterilmiştir [16].

**Tablo 1.** Ekzojen antioksidanlar

Antioksidan	Etki mekanizması
Askorbik asit	Hidroksil radikallerini (OH•) temizler
B-Karoten	Yağda çözünen radikaller ile singlet oksijeni temizler
Vitamin E	Yağda çözünen, zincir kırıcı etki gösterir

## OKSİDATİF STRESİN HÜRESEL YAPILAR ÜZERİNE ETKİLERİ

Reaktif oksijen türlerinin hücre içerisinde yukarıda sayılan nedenlere bağlı olarak artışı veya antioksidanların patolojik süreçler sonucunda azalmasına bağlı olarak oksidatif denge bozulur [17]. ROS miktarındaki bu artış sonuçta hücre membranlarında hasar, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma ve DNA'da yapısal hasar meydana getirerek hücre zedelenmesine yol açar.

### Oksidatif stres ve hücre lipit yapılar üzerine etkisi

Reaktif oksijen türleri biyolojik membranlarda bulunan poliansatüre yağ asitlerinde (PUFA) oksidasyonu yol açarak lipit peroksidasyonunu başlatırlar [15].

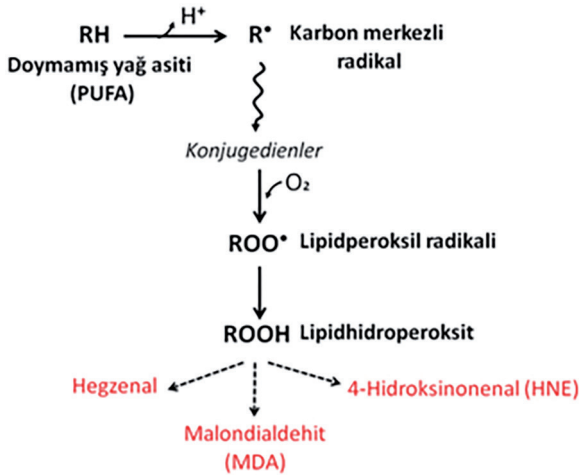
ROS içerisinde en güçlü reaktiviteye sahip olan radikal Fenton (1c) veya Haber Weiss (1d) reaksiyonu ile oluşan hidroksil radikaldır (OH•). Temelde süreç yüksek reaktiviteye sahip radikallerin hücre membranlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerine saldırarak bir hidrojen atomunu metilen gruptan (-CH<sub>2</sub>-) koparması ile başlar. Hidrojen atomu sadece bir elektron içerdiğinden metilen gruptan bir elektron kopması sonucunda karbon üzerinde eşleşmemiş bir elektron kalır.

**Tablo 2.** Endojen antioksidanlar

Enzim olmayanlar	
Albümin	Bakır ve Hem grubu bağlar, HOCl'u ortamdan temizler
Seruloplazmin	Bakır iyonlarını bağlar, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'i kullanarak bakırın reoksidasyonunu sağlar
Transferrin	Ferrik haldeki demir iyonlarını (Fe <sup>3+</sup> ) bağlar
Laktoferrin	Ferrik haldeki demir iyonlarını (Fe <sup>3+</sup> ) düşük pH değerlerinde bağlar
Haptogloblin	Hemoglobini bağlar
Hemopeksin	Hem grubunu bağlar
Bilirübin	Peroksil radikallerini temizler
Glikoz	Hidroksil radikallerini (OH•) temizler
Ürat	Radikalleri temizler ve metalleri bağlar
Melatonin	Hidroksil radikallerini (OH•) temizler
Mukus	Hidroksil radikallerini (OH•) temizler
Enzim yapıda olanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Süperoksit radikalini temizler (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) O <sub>2</sub> <sup>-</sup> + 2H <sup>+</sup> → H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>
Katalaz (CAT)	Hidrojen peroksiti (yüksek konsantrasyonda ise) ortamdan uzaklaştırır 2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + O <sub>2</sub> → 2H <sub>2</sub> O + O <sub>2</sub>
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Hidrojen peroksiti (düşük konsantrasyonda ise) ortamdan uzaklaştırır H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 2 GSH → GSSG + 2H <sub>2</sub> O
Sitokrom oksidaz	Oksijenin suya indirgenmesi sırasında aktif oksijenin ortama salınımını engelleyerek ROS (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , OH•, O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) oluşumunu engeller.

GSH: Redükte glutasyon, GSSG: Okside glutasyon

(-CH<sup>•</sup>). Yağ asitinde bulunan çift bağ, kendisine bitişik karbon ile hidrojen arasındaki bağı zayıflattığından dolayı (C-H) hidrojenin koparılması kolaylaşmış olur [16]. Bu nedenle özellikle hücresel membran lipitlerinin poliansatüre yağ asiti zincirleri peroksidasyona daha fazla duyarlıdır. Hidrojen kaybeden yağ asiti moleküler olarak yeniden düzenlenir ve konjuge dien yapısı oluşur. Oluşan konjuge dien yapı oksijenle birleşir ve lipit peroksil radikallerine (LOO<sup>•</sup>) dönüşür. Bu peroksil radikalleri diğer yağ asitlerinden hidrojen kopararak zincirleme peroksidasyon reaksiyonlarını başlatır [18]. Lipit peroksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan lipit peroksitleri (Lipit peroksit, siklik peroksit ve siklik endoperoksit) sonuçta sekonder veya son ürünler olan Malondialdehit (MDA), 4-Hidroksinonenal (HNE) ve hegzenal isimli aldehitlere dönüşür [19,20] (Şekil 2). Membranlarda meydana gelen zincirleme peroksidasyon reaksiyonları ortama zincir kırıcı bir antioksidan eklenen kadar (örn, Vit E) devam eder. Antioksidanların (Tablo 1 ve 2) yokluğunda peroksil radikalleri birbirleri ile çapraz kovalent bağ oluşturarak membran yapısını bozar ve membranı hasarlanmaya yatkın hale getirir. Biyolojik membranlarda meydana gelen peroksidasyon membran akışkanlığında bozulma, membran potansiyelinde azalma, membranların H<sup>+</sup> ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğinde artışa yol açarak membranların rüptüre olmasına ve organel içeriğinin sitoplazmaya salınmasına sebep olur. Sonuç olarak hücre hasarı veya hücre ölümü meydana gelir [21].



**Şekil 2.** Reaktif oksijen türlerine bağlı oluşan lipit peroksidasyon ürünleri

Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitleri ve aldehitler, TBARS (ThioBarbituric Acid Reactive Substances) olarak adlandırılır ve

MDA eşdeğerleri olarak spektrofotometrik ve florometrik metotlarla dokuda veya vücut sıvılarında ölçülebilirler [22,23].

### Oksidatif stres ve hücresel protein yapıları üzerine etkisi

Oksidatif stres sonucunda oluşan başta hidroksil radikali olmak üzere reaktif oksijen türleri hücre içi proteinler üzerinde geri-dönüşümlü veya geri-dönüşümsüz oksidatif modifikasyona ve sonuçta oksidatif hasara yol açar [24,25]. Hücre içi protein yapıları okside olduklarında yan zincirleri (Prolin, Arginin, lizin ve treonin) üzerinde karbonil gruplar oluşur. Protein karbonil yapıları aynı zamanda α-amidasyon yolağı ve glutamil yan zincirlerin oksidasyonu sonucunda proteinlerin parçalanması ile de ortaya çıkar [26]. Bunun dışında protein yan zincirleri üzerindeki sistein, histidin ve lizin rezidülerinin lipit peroksidasyonu sonucu oluşan aldehitler (MDA, HNE), indirgeyici şekerler tarafından oluşturulan karbonil deriveleri (ketoaminler ve ketoaldehitler) ve proteinlerin lizin rezidülerinin oksidasyon ürünleri (glikasyon, glikoksidasyon) ile sekonder reaksiyona uğramaları sonucunda da proteinler üzerinde karbonil gruplar oluşabilir [26]. Oksidatif stres sonucunda protein yapılarında oluşan oksidatif modifikasyonlar, hücre iskeletini oluşturan proteinlerde ve enzimlerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açar. Protein karbonilasyonu ve tirozin nitrasyonu geri-dönüşümsüz oksidatif modifikasyonlar olarak kabul edilirken sistein modifikasyonların geri-dönüşümlü olduğu kabul edilir [24,25]. Bu modifikasyonlar birçok hastalığın patogenezinde sorumludur.

Oksidatif stres sonucu oluşan protein karbonil deriveleri (PCO) protein oksidasyonunun en yaygın kullanılan belirteci olup hastalıklar sonucunda oluşan oksidatif stresi değerlendirmede kullanılır. Ölçüm yöntemlerinin çoğu karbonil gruplarının 2,4-Dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile derivatizasyonu sonucu dinitrofenol (DNP) oluşumuna dayalıdır. Son ürün spektrofotometrik, ELİSA ve Western Blotting gibi yöntemlerle ölçülebilir. Protein karbonil derivelerinin daha erken oluşması ve daha stabil olmaları nedeniyle oksidatif hasar belirteci olarak kullanılmaları yarı ömrü dakikalarla sınırlı olan lipit peroksidasyon ürünlerine göre daha avantajlıdır [26,27].

### Oksidatif stres ve DNA hasarı

Oksidatif DNA hasarının başta karsinogenezis olmak üzere birçok hastalığın patogenezinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikalleri lipit ve proteinlerde ol-

duğu gibi DNA bazlarındaki çift bağlara H atomu ekleyerek veya 2-deoksiribozun C-H bağlarından ve timin yapısındaki metil gruplarından H atomu çıkararak DNA molekülü ile reaksiyona girer [28]. Sonuçta oluşan Timin peroksil radikalleri indirgenir ve hidroksihidroperoksit, timin glikol, 5-hidroksimetilurasil, 5-formilurasil ve 5-hidroksi 5-metilhidantoin gibi oksidasyon ürünlerine dönüşürler. DNA baz mutasyonları içerisinde en fazla bilineni 8-OHdG (8-hidroksi-2'-deoksiguanozin)'dir. Hidroksil radikalleri (OH•), guanin molekülünde 8. pozisyonda etkileşerek oksidasyona yol açar. Değişikliğe uğrayan DNA'nın oksidatif hasarı sonucunda 8-OHdG (8-hidroksi-2'-deoksiguanozin) oluşur. Ayrıca Cu<sup>+2</sup> iyonları DNA'nın özellikle guanin bazlarına yüksek afinite ile bağlanır ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile etkileşime girerek DNA hasarına katkıda bulunurlar. 8-OHdG formunda oksidatif değişikliğe uğramış DNA, DNA hasarının miktarının belirlenmesinde kullanılır [29].

Oksidatif stresin DNA yapısı üzerine bir diğer etkisi de oluşan baz radikallerin proteinlerin aromatik aminoasitleri ile kombine olarak "DNA-protein" çapraz bağları oluşturmalarıdır [30]. Bunun yanında hidroksil radikalleri DNA üzerindeki şeker kalıtlarından H atomu kopararak şeker modifikasyonlarına ve zincir kırılmalarına da yol açar. Sonuçta hücrelerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye veya diğer oksidan maddelere maruz kalması replikasyon ve transkripsiyon üzerine etkili olup aynı zamanda DNA tamir mekanizmalarını baskılayarak DNA hasarını artırır [31]. DNA hasarı ile ilişkili en önemli patolojik süreç karsinogenezis olup oksidatif hasarın karsinogenezisin başlangıç, ilerleme ve malign dönüşüm evreleri üzerinde önemli bir rol üstlendiği düşünülmektedir. DNA üzerine oksidatif hasarın göstergesi olarak yükselmiş 8-OH-dG (8-hidroksiguanin) düzeylerinin, potansiyel mutajenik özelliğe sahip olup doku, plazma ve idrarda biyokimyasal belirteç olarak kullanılmaktadır [32]. Reaktif radikallerin DNA'da yol açtığı hasar sonucu oluşan ürünler, başta gaz kromatografisi olmak üzere (GC), NMR spektroskopisi ve yüksek basınçlı likit kromatografi (HPLC) gibi çeşitli yöntemlerle belirlenebilir. İmmünoassay yöntemlerden ise başlıca ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) yöntemi mevcut olup nispeten daha ekonomik ve daha kısa analiz zamanı sağladığından diğer yöntemlere göre avantajlıdır.

## SONUÇ

Oksidatif stres hücre metabolizma sırasında açığa çıkan ROS ile oluşan ve tüm aerobik hücrelerde

görülebilen bir patolojidir. ROS'un çeşitli etkenlere bağlı olarak aşırı üretimi veya antioksidan sistemlerin yetersizliği nedeniyle detoksifikasyonlarındaki yavaşlama bu radikallerin birikimine ve hücrede bulunan lipid ve protein yapıdaki moleküllerle DNA üzerine toksik etkilere yol açar. Hücresel membranlarda bulunan lipid yapılarda oksidatif hasar oluşur ve başta MDA olmak üzere 4-Hidroksinonenal (HNE) ve hegzanal gibi aldehit yapıları bileşikler açığa çıkar. Bunlardan MDA dokulardaki lipid hasarının göstergesi olarak kullanılan biyokimyasal bir belirteçtir. Hücre içi proteinler üzerine ROS etkisi ile protein karbonil (PCO) deriveleri oluşur. Sonuçta protein yapıları bileşiklerde (örn enzimler, hücre iskelet proteinleri vb.) yapı ve fonksiyon kaybı ortaya çıkar ve hücre hasarı meydana gelir. Protein karbonil gruplar spektrofotometrik olarak ölçülebilirler ve lipid hasarı sonucunda oluşan aldehitlere göre daha uzun ömürlü olduklarından oksidatif hasarın hücresel göstergesi olarak tercih edilirler. Oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikaller DNA üzerindeki bazlarda bulunan çift bağlarda proteinlerdekine benzer şekilde modifikasyona yol açarak çok çeşitli toksik etkiler gösterebilirler. Sonuçta DNA-protein çapraz bağlarının oluşması, zincir kırılması ve mutajenik etkiye yol açarak karsinogenezis patogenezinde önemli rol oynarlar.

Reaktif oksijen türleri ve hücre yapıları üzerine etki mekanizmalarına yönelik çok sayıda araştırma yapılmasına karşın birçok hastalığın patogenezi ile ilişkili bulunduğu halen güncelliğini koruyan bir alandır. Bu yönüyle yeni ve daha kapsamlı çalışmaların gelecekte hastalıkların kliniğini açıklamada önemli bir rol oynayacağını düşünüyoruz.

## KAYNAKLAR

1. Yan LJ, Sohal RS. Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified oxidatively during aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:896-901.
2. Yan LJ. Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance. *Redox Biol* 2014;9:165-169.
3. Dokuyucu R, Karateke A, Gokce H, et al. Antioxidant effects of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014;183:23-27.
4. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem*. 1997;272:20313-20316.
5. Motor S, Ozturk S, Ozcan O, et al. Evaluation of total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stress index in patients with alopecia areata. *Int J Clin Exp Med* 2014;7: 1089-1093.

6. Aydın M, Selcoki Y, Nazlı Y, et al. Relationship between total antioxidant capacity and the severity of coronary artery Disease. *J Clin Exp Invest* 2012;3:22-28.
7. Şahin DY, Elbasan Z, Gür M, et al. Relationship between oxidative stress markers and cardiac syndrome X. *J Clin Exp Invest* 2012;3:174-180.
8. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2002;33:110-118.
9. Navarro A, Boveris A. Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287:1244-1249.
10. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 2005;12:1161-1208.
11. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-142.
12. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 2011;283:65-87.
13. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014;2014:360438.
14. Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem Rev* 2011;111:5944-5972.
15. Gupta RK, Patel AK, Shah N, et al. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:4405-4409.
16. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995;41:1819-1828.
17. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* 1991;91: 31-38.
18. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems, *J Lipid Res* 1998;39:1529-1542.
19. Kanner J, German JB, Kinsella JE. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1987;25:317-364.
20. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991;11:81-128.
21. Catalá A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38:1482-1495.
22. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990;186:407-421.
23. Pryor WA. On the detection of lipid hydroperoxides in biological samples. *Free Radic Biol Med* 1989;7:177-178.
24. Prokai L, Yan LJ, Vera-Serrano JL, et al. Mass spectrometry-based survey of age-associated protein carbonylation in rat brain mitochondria. *J Mass Spectrom* 2007;42:1583-1589.
25. Rao RS, Moller IM. Pattern of occurrence and occupancy of carbonylation sites in proteins. *Proteomics* 2011;11:4166-4173
26. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, et al. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003;329:23-38.
27. Levine RL, Garland D, Oliver CN, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1990;186:464-478.
28. Breen AP and Murphy JA. Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radic Biol Med* 1995;18:1033-1077.
29. Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-Hydroxy-guanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol* 1999;300:156-166.
30. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *Faseb J* 2003;17:1195-214.
31. Hu JJ, Dubin N, Kurland D, Ma BL and Roush GC. The effects of hydrogen peroxide on DNA repair activities. *Mutat Res* 1995;336:193-201.
32. Hardie LJ, Briggs JA, Davidson LA, et al. The effect of hOGG1 and glutathione peroxidase I genotypes and 3p chromosomal loss on 8-hydroxydeoxyguanosine levels in lung cancer. *Carcinogenesis* 2000;21:167-172.