

Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi

Ufuk MERCAN

Yüzüncü yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı, VAN

ÖZET

Bu makalede, toksikolojide serbest radikallerle ilgili son bilgilerin bir özeti sunulması amaçlandı. Medline, Pubmed, Sciencedirect gibi veritabanlarını kullanarak bir literatür taraması yapıldı. İncelenen ilgili bütün makaleler özetlenip bu çalışmada sunuldu.

Anahtar kelimeler: Serbest radikal, Toksikoloji

Importance of Free Radicals in Toxicology

SUMMARY

In this paper, to present a brief review of recent data regarding free radicals in toxicology was purposed. A search of the literature was performed using medical database e.g. Medline, Pubmed, Sciencedirect. Studied all relevant articles were summarized and presented in this paper.

Key words :Free radical, Toxicology.

GİRİŞ

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında parakuat, alloksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeler bulunması nedeniyle serbest radikaller toksikolojik açıdan da önemlidir (20, 38, 48, 56).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Çoğu olayda serbest radikal üretimi, pato-mekanizmanın bir parçasıdır ve pek çok ksenobiyotiğin toksisitesi, serbest radikal üretimi ile ilgilidir. Kadmiyum ve kurşun gibi bazı çevre kirleticilere uzun süre mesleki maruz kalmalar, oksidatif strese neden olabilir ki bu, biyolojik sistemlerdeki istenmeyen etkilerin altında yatan bir mekanizmadır (1, 2). Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Oksidatif stres, toksisitenin olası bir mekanizması olarak son on yıldır toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir.

Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir (10). Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen, süperoksit grubuna (O_2^-) bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubu, bakırlı bir enzim olan

süperoksit dismutaz (SOD) aracılığında hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene çevrilir. Süperoksit grubundan daha zayıf etkili olan H_2O_2 , dokularda bulunan katalaz, peroksidaz ve glutasyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz kılınır. Dietilditiyokarbamat gibi süperoksit dismutazın etkinliğini engelleyen maddeler, süperoksit gruplarının zararsız hale getirilmesini sınırlandırırken, lipid peroksidasyonu hızlandırır. Ayrıca katalazın etkinliğini engelleyen maddeler (aminotriazol gibi herbisidler) de etkin oksijen gruplarına veya bu grupları oluşturan maddelere duyarlılığı artırır (26, 33).

Serbest oksijen radikallerinin, ilaç ve toksinle oluşan reaksiyonlar, kurşun zehirlenmesi, aminoglikozit nefrotoksitesisi, ağır metal nefrotoksitesisi, karbon tetraklorüre bağlı karaciğer hasarı, glomerulonefritis, hepatitis B, iskemi ve reperfüzyon, Vit E eksikliği, kanser, amfizem, hiperoksi, bronkopulmoner displazi, arteroskleroz, pankreatitis ve romatoid artrit gibi pek çok hastalığın patogenezesinde etkili oldukları öne sürülmektedir (11, 38).

Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen, hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur. Lipid peroksitler, indirgenmiş glutasyona (GSH) bağımlı selenyumlu bir enzim olan GS-peroksidaz tarafından lipid alkollere çevrilerek inaktive edilirse de, gerek süperoksit gruplarıyla fazla miktarda lipid peroksitlerin şekillendirilmesi ve gerek selenyum eksikliği ve gerekse ortamdaki GSH'nın tükenmesine neden olabilen dietilmaleat, dioksin gibi maddelerin bulunması, lipid hidroperoksitlerinden serbest lipid grupların oluşmasına yol açar. Serbest lipid grupları da, ayrıca doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur. Lipid

hidroperoksitlerin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize olurlar ya da başlangıçtaki etki alanlarında diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarak sekonder bozuklukların da göstergesi olabilirler. Beyin, oksidatif hasara en duyarlı bölgedir. Serbest radikaller, santral sinir sisteminin patolojik durumlarının pek çoğunda, direkt olarak doku hasarı meydana getirirler. Serbest oksijen türleri, ekzitotoksisite, metabolik disfonksiyon ve kalsiyumun intraselüler homeostazisinde bozulma gibi çoğul mekanizmalarla doku hasarı meydana getirirler. (14, 19, 26, 33).

Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinogeniktir (23, 37, 40, 42).

Serbest radikallerin ekzojen kaynakları

İlaçlar: Aminotriazol, asetaminofen, bleomisin, doksorubisin, hiperbarik oksijen, klonazin, klosapin, 3,4-metilendioksümetamfetamin, nitrofurantoin, siprofloksasin, siklosporin, trisiklik antideprezanlar, troglitazon.

Metal iyonları : Demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa
Kirleticiler : Asbest lifleri, mineral tozlar, ozon, karbon monoksit, nitrik oksit, nitrojen dioksit, silika, bazı solventler, toksinler, hipoklorit, kükürt dioksit, yangın, PCB, parakuat, dikuat, plumbagin, juglone.

Radyasyon : Ultraviyole ışık, x-ray, gamma radyasyon (2).

Bazı kimyasal maddelerin toksik etkileri ile serbest radikaller arasındaki ilişki

Karbon tetraklorür (CCl₄)'ün hepatotoksitesisi:

Antelmantik olarak veteriner pratiğinde yer bulan CCl₄, akut veya gecikmiş tipte karaciğer toksikasyonlarına neden olmaktadır. Akut toksikasyonların histopatolojisinde karaciğerde hasar, yağlanma ve nekroz gözlenir. CCl₄, sitokrom P-450 monooksijenaz sistemi tarafından triklorometil ve triklorometilperoksi radikallerine dönüştürülür. Bu radikaller çok aktif olup, CCl₄'ün karaciğerde özellikle sentrolobüler bölgede neden olduğu nekrozdan sorumludurlar. Triklorometil radikali, makromoleküllerle dayanıklı adduct oluşturduğu gibi, oksijenle de birleşerek daha aktif metabolit olan triklorometilperoksi radikali meydana gelir. Bu radikal, lipid peroksidasyonun temel başlatıcısıdır. Lipid peroksidasyon, lipoprotein sentezi için gerekli olan yapıları da hasara uğratarak hepatik lipidozise yardımcı olur. Karaciğerde aşırı lipid birikimi sonucu, organın fonksiyon bozukluğu ve siroza doğru ilerleyen değişimler ortaya çıkar. Kazlarda oluşturulan deneysel CCl₄ zehirlenmesinde lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeyleri kontrollere göre önemli derecede yüksek bulunmuş ve makroskobik olarak karaciğerde diffüz bir yağlanma

şekillendiği görülmüştür (19, 34, 41, 51, 55).

Fosfor ve trihalometanların (bromotriklorometan, halotan, karbon tetrabromür, bromoform, iyodoform ve dibromoklorometan) da lipid peroksidasyonla hepatotoksik etki gösterdikleri belirlenmiştir. Diğer ksenobiyotiklerden bromobenzenin 3,4-epoksit metabolitinin hücre nekrozuna ve hepatotoksik etkiye neden olduğu gösterilmiştir (53, 55).

Pestisidler : Serbest radikaller, pestisidlerin ve çevresel kimyasalların toksisitelelerinde önemli rol oynarlar. Pestisidler, oksidatif strese, serbest radikal üretimine, antioksidanlarda değişime yol açabilirler. Lipid peroksidasyon, pestisidlerin neden olduğu zehirlenmelerde zehirlenme mekanizmalarından biri olarak belirtilmiştir (27). Fazla miktarda reaktif oksijen grubunun açığa çıkması, glutasyon tükenmesine yol açılması, selenyum, bakır gibi bazı metallerin eksikliği veya fazlalığı (Se) bu yeteneği sınırlandırır. Böylece açığa çıkan reaktif oksijen türleri hücre zarları, DNA, RNA gibi yapılarda hasara neden olur. Bu durum, pestisidlerin karaciğer, böbrek, sinirler, kaslar ve benzeri yerlerde yol açtıkları hasarın başlıca nedenleri arasındadır. Paratiyon, paraokson, metilparatiyon, malatiyon, malaokson, dimetilmalatiyon, klortiyon, DDT, dikaptiyon, fenitrotiyon, heksaklorobenzen, triklorfon, mireks, CCl₄, uçucu halojenli alkan bileşikleri, dioksin, klorprofam, klorbufam gibi fenilkarbamatlar, fenilüre, propanil, manolid gibi asilanilidler, bipiridil türevi herbisidler lipid peroksidasyona yol açarlar. Mevinfos, fosfamidon, dikrotofos, tetraklorinfos, temivenfosgibi vinilfosfat türevi OF bileşikleri ile pentaklorofenoller peroksidasyonu kolaylaştırırlar. Aminotriazid gibi pestisidler ise katalazın etkinliğini engellerler (26).

Nitro-aromatik yapıları organik fosforlu bileşikler vücutta biyotransformasyonları sırasında süperoksit grupları açığa çıkarılır; hücre zarı fosfolipidlerinde lipid peroksidasyona ve sonuçta hücre hasarına yol açarlar. Fosfolipidlerin peroksidasyonunu kolaylaştıran OF'lu bileşikler, biyotransformasyonları sırasında ortak metabolit 2,4-diklorofenilasil klorür şekillenir. Bu madde glutasyon tükenmesine yol açarak lipid peroksidasyona karşı koruyucu mekanizmaları zayıflatır. Ayrıca tiyodemeton, NADPH ve askorbik asitle hızlandırılan lipid peroksidasyonu teşvik eder. Bazı çalışmalarda (6, 7, 17, 57) lipid peroksidasyonun, organik fosforlu insektisid toksitesinin moleküler mekanizmalarından biri olduğu ileri sürülmüştür. OF'lu bileşiklerin neden olduğu felçler, oksidatif stresle ilişkilidir. Aynı zamanda OF bileşiklerle zehirlenmeye eşlik eden akut tubüler nekrozun, lipid peroksidasyon ve reaktif oksijen türleriyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (2). Etil-klorpinfosun eritrositlerde lipid peroksidasyonun artmasına neden olduğu gösterilmiştir (17). Altuntaş ve arkadaşları (5), organik fosforlu insektisidlerden fosalonun yüksek dozlarda MDA şekillenmesinde bir artışa, katalaz, süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz aktivitelerinde bir azalmaya neden olduğu; fakat düşük dozlarda reaktif oksijen türlerinin toksik etkiler içinde yer almayacağını bildirmişlerdir.

DDT ve metoksiklorun oksidatif stres ve lipid peroksidasyona neden olduğu kanıtlanmıştır. Aynı zamanda metoksiklorun erkek üreme sistemi üzerindeki istenmeyen etkileri tanımlanmıştır ki bunlar, keçilerin epididimal spermelerindeki antioksidanların azalmasına bağlı olmaktadır (2, 15). Lipid peroksidasyon, lindanın meydana getirdiği doku hasarını da kapsayan önemli moleküler mekanizma olarak belirtilmiştir. DDT ve lindanın neden olduğu immunotoksisitede serbest radikallerin ilgisi olduğu kanıtlanmıştır (28). Endosulfan ile dieldrinin de oksidatif strese yol açtığı bildirilmektedir. Artmış MDA düzeyi endosulfan hasarının bir göstergesidir. LD₅₀' nin altındaki dozlarda bile endosulfan, miyokard hücrelerini etkiler. Vit E, serbest radikal şekillenmesini inhibe ederken, aynı zamanda endosulfanın kardiyotoksisitesini de azaltır (1, 23).

Rodentisidlerden alüminyum fosfür ile zehirlenmiş 45 hastada, kontrollere göre SOD düzeyleri belirgin olarak yüksek olmasına karşın, serum katalaz önemli oranda düşük bulunmuştur. Bu durum yoğun H₂O₂ yüklemesiyle sonuçlanmış ve MDA da buna paralel olarak çok yüksek bulunmuştur (9).

Bipiridil herbisitlerin oksidatif stres oluşturma mekanizması basittir. Parakuat NADPH'ya bağımlı indirgenme/yükseltgenme tepkimesine maruz kalmakta ve her seferinde elektron doğurarak süperoksidleri şekillendirmektedir. Akciğer dokusunda süperoksid dismutaz bulunmaz. Bu nedenle parakuat önderliğinde şekillenen süperoksid gruplarına, akciğer dokusu aşırı derecede duyarlılık gösterir. Aminotriazol gibi katalazın etkinliğini engelleyen maddeler, parakuata duyarlılığı artırır ve hayvanlarda hızla ölüme yol açar (2, 26, 55). Parakuat, reaktif oksijen türlerinin anormal oluşumu nedeniyle beyin hasarı meydana getirir. Dopaminerjik nöronlar, reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimine çok duyarlıdır (35). Diuron, fenuron, linuron, monolinuron, monuron, metazol, neburon gibi fenilüre türevi herbisitler, vücutta uğradıkları N-yükseltgenme tepkimesiyle azoik bileşikler oluştururlar. Karsinojenik olan azoik bileşikler, hücre zarlarında lipid peroksidasyona yol açarlar (26). Fenoksi herbisitlerden 4-klorofenoksiasetik asidin, insan eritrosit antioksidan enzimleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (4), bazı enzimlerin inaktivasyonunun bu bileşiklerin toksikasyonunda rol oynayabilecekleri ileri sürülmüştür.

Pek çok çalışma (2, 16, 22, 32), piretroidlerin oksidatif strese yol açtığını göstermiştir. Süperoksid dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde artış, muhtemelen piretroidlerle zehirlenmiş ratlarda artmış oksidatif strese ilk verilen cevaptır. Piretroidlerden fenvalerat uygulanmış farelerde serbest radikal üretiminde artış olmakta ve SOD ile katalazın aktivitelerinde de artış olmaktadır (32).

Mikotoksinler: Hücreler üzerinde mikotoksinlerin etki mekanizması, serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerinin üretimi ile gerçekleşir. Aflatoksin B₁ (AFB₁) veya dimetilnitrozaminin deneysel çalışmalarda rat hepatositlerini öldürmesi, katalaz, SOD, mannitol veya deferoksamin ile önlenir. Bu sonuçlar aktif oksijen

türlerinin, hepatokarsinojenlerin sitotoksisitesinde önemli bir rolü olduğuna işaret eder ve serbest radikal metabolitlerinin varlığını gösterir. Salmonellalar üzerindeki aflatoksin toksisitesi vitamin A, C ve E ile kısmi olarak baskılanmıştır. Beta-karoten, vitamin C ve E, selenyum, ürik asit gibi bazı antioksidanların diyetle alımı, ratlarda AFB₁'in neden olduğu karaciğer kanserini azaltmıştır (33). Aflatoksinler kadar önemli olan okratoksinler, hücre zarlarında demirin yardımcı faktör olarak iş gördüğü lipid peroksidasyonu teşvik eder. Okratoksin demirle birleşerek lipid peroksidasyonu başlatıp, demirin indirgenmesini kolaylaştırır. NADPH-sitokrom P-450 redüktaz sisteminin varlığında okratoksin-demir bileşiği, son derece etkin ve zehirli hidroksil grubunun oluşmasına yol açar. Bu grup, okratoksinin zehirliliğinden kısmen sorumludur. Okratoksin alımı MDA'yı önemli ölçüde artırır. Okratoksinin hücre zarındaki lipid peroksidasyona yol açan bu etkisi, hücre içine yönelik Ca girişini artırır ve sonuçta hücrede ölüme varan değişimlere neden olur. Peroksidasyon, özellikle proksimal tubüllerde çok belirgindir. Ayrıca karaciğere yönelik ilk etkilerin arasında yer alır (26).

Metaller : Metal iyonları, süperoksid anyonları ve H₂O₂ ile biyolojik sistemlerde hidroksil serbest radikali ve metal-oksijen kompleksleri gibi çok reaktif türleri üretmek için reaksiyona girerler ve sonuçta oksidatif DNA hasarı oluşur. Kimyasal karsinogenezde, metallerin aracılık ettiği oksidatif DNA hasarı önemli rol oynar (25, 54).

Kurşunun neden olduğu toksik etkiler, serbest radikal üretimi ve oksidatif stres yoluyla meydana gelmektedir. Subkronik kurşuna maruz kalmada oksidatif stres ile beyindeki histopatolojik değişimler arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada (49), kurşun asetatın ratların beyin hasarında önemli bir rolü olan oksidatif stres oluşturduğu sonucuna varılmıştır.

Radikal oksijen türleri ve radikal üretimi akut kadmiyum toksisitesi için bir mekanizma olarak gösterilmektedir. Hapatosit kültürlerinin kadmiyuma maruz kalması, lipid peroksidasyona neden olur. Kültür hücrelerinde kadmiyum süperoksid anyonu, nitrik oksid ve H₂O₂ üretimine yol açar ve bunlar, değişik yollarla kadmiyuma maruz kalan hayvanların plazma, beyin, akciğer, karaciğer ve böbreklerinde oksidatif hasar ve lipid peroksidasyon meydana getirirler. Verilen Vit E ve beta-karoten ise CdCl₂'ün zararlı etkilerini azaltır (13, 30).

Arsenik serebellum ve serebral hemisferlerde lipid peroksidasyonu artırırken, glutasyon konsantrasyonunu, SOD ve katalaz aktivitelerini düşürmüştür ve bu oksidatif stresin göstergesidir (44).

Yüksek dozlarda flor alımı H₂O₂, süperoksid, hidroksil üretimini artırmaktadır (45, 47). Florun fazla alınması solunum patlamasını artırmakta ve dolayısıyla süperoksidin daha fazla üretilmesine neden olmaktadır (45). Süperoksid direkt olarak zarar vermemesine rağmen H₂O₂ kaynağı olması nedeniyle zararlıdır. H₂O₂, membran lipidlerinde lipid peroksidasyona, süperoksid dismutazın inaktivasyonuna, DNA hasarına neden olmaktadır (3, 21, 31). Deneysel florozis oluşturulmuş Tuj ırkı koyunlarda florun H₂O₂, süperoksid ve hidroksil radikallerini artırdığı

ve H₂O₂'nin SOD aktivitesini inhibe ettiği belirlenmiştir (12). Shanthakumari ve arkadaşları (46), 16 hafta boyunca içme suyuyla 25 ppm/rat/gün dozunda flor alan ratlarda lipid peroksidasyonun arttığını, SOD, katalaz, GPx aktivitelerinde ve GSH konsantrasyonunda azalma görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu değişimlerin serbest radikallerin artmış üretimine bağlanmıştır.

Selenyumlu bileşiklerin toksisitesi, H₂O₂, O₂⁻ ve benzer oksiradikal üretimi için prooksidan katalitik aktiviteleri nedeniyle. Glutasyonun selenit tarafından oksidasyonu O₂⁻ üretir. Selenyum aynı zamanda karsinostatik aktiviteye de sahiptir (50).

Diğer maddeler : Ozona maruz kalan ratların beyinde, lipid peroksidasyonun bir indikatörü olarak tiobarbitürik asit oranında bir artış bulunmuştur (43). Çok zehirli bir madde olan siyanüre maruz kalmadan sonra, hücre sitoplazmasında 1-2 saniye içerisinde peroksidler şekillenmiş ve birkaç dakikalık bir süre boyunca birikmeye devam etmiştir. Aynı zamanda siyanür, antioksidan savunma sistemlerini de inhibe etmiştir. Peroksid birikimi ve siyanürün neden olduğu hücre ölümü, askorbat ile durdurulmuştur (24). Metanol intoksikasyonu ratlarda lipid peroksidasyonu artırırken, serbest radikalleri yok eden enzim sistemini tüketmiştir. Vit E'nin etkisi, hayvanları metanolun yol açtığı serbest radikal hasarından korumuştur (39).

Antioksidanlar

Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Vitamin C, E, A, beta-karoten, metallotionin, poliaminler, melatonin, NADPH, adozin, koenzim Q-10, urat, ubikuinol, polifenoller, flavonoidler, fitoöstrojenler, sistein, homosistein, taurin, metionin, s-adenozil-L-metionin, resveratrol, nitroksidler, GSH, glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksid dismutaz, tioredoksin redüktaz, nitrik oksid sintaz, hem oksijenaz-L ve eozinofil peroksidaz bu gruba girer (3, 18, 33). Diyetle alınan alfa-tokoferol lipid peroksidasyona karşı korur ve sonuçta steroidlerin neden olduğu karaciğer hücre hasarı ve tümör gelişimine karşı kullanılabilir (52). Bunlara karşın Krajcovicova ve arkadaşları (29), Vit. C ve E'nin artmış lipid peroksidasyon ve serbest radikallere karşı savunmada yetersiz kaldığını belirtmişlerdir. İnsanlarda serebrovasküler hastalıklarda kullanım alanı bulan idebenonun, serbest radikal yokedicisi gibi etki gösterdiği ve lipid peroksidasyona karşı mitokondrial membranı koruduğu belirlenmiştir (36). Yine anestezi dozlarında kullanılan propofolun, hücre membranlarında lipid peroksidasyonu sınırlandırabildiği veya durdurabildiği gösterilmiştir (8).

KAYNAKLAR

1.Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zafariet K, (2003) : Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits

cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 135: 331-336.

2.Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A, (2004) : Pesticides and oxidative stress : a review. *Med. Sci. Monit.*, 10: 141-147.

3.Akkuş İ, (1995) : Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimosya Yayınları No 38, Sağlık dizisi 5, Konya.

4.Alıcığüzel Y, Özdem S, Demir AY, Ünal F, Kumbul D, Özdem SS, Perry G, Smith MA, (2001) : Effect of the herbicide 4-CPA on human erythrocyte antioxidant enzymes in vitro. *Redox Rep.*, 6: 153-154.

5.Altuntaş İ, Delibaş N, Doğuca DK, Özmen S, Gültekin F, (2003) : Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. *Toxicology In Vitro*, 17: 153-157.

6.Bachowski S, Kolağa KL, Xu Y, Ketcham CA, Stevenson DE, Walborg EF, Klaunig JE, (1997) : Role of oxidative stress in the mechanism of dieldrin's hepatotoxicity. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 27: 196-209.

7.Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, Stohs SJ, (1995) : In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticide. *Toxicology*, 104: 129-140.

8.Bao YP, Williamson G, Tew D, Plumb GW, Lambert N, Jones JG, Menon DK, (1998) : Antioxidant effects of propofol in human hepatic microsomes: concentration effects and clinical relevance. *British J. Anaesth.*, 81: 584-589.

9.Chugh SN, Arora V, Sharma A, Chugh K, (1996) : Free radical scavengers and lipid peroxidation in acute aluminium phosphide poisoning. *Indian J. Med. Res.*, 104: 190-193.

10.Cochran CG, (1991) : Cellular injury by oxidants. *Am. J. Med.*, 92: 235-305.

11.Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D, (1987) : Oxygene radicals and human disease. *Ann. Intern. Med.*, 107: 526-545.

12.Çenesiz S, Özcan A, (2003): Deneysel kronik florozis oluşturulmuş Tuj ırkı koyunlarda eritrosit süperoksit dismutaz, katalaz ve glutasyon peroksidaz aktivitelerinin araştırılması. *Kafkas Ü. Vet. Fak. Derg.*, 9: 161-164.

13.El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH, (2004) : Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and beta-carotene. *Food Chem. Toxicol.*, 42: 1563-1571.

14.Facchinetti F, Dawson VL, Dawson TM, (1998) : Free radicals as mediators of neuronal injury. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 18: 667-682.

15.Gangadharan B, (2001) : Effect of methoxychlor on antioxidant system of goat epididymal sperm in vitro. *B. Asian J. Androl.*, 3: 285-88.

16.Gupta A, (1999) : Effect of pyrethroid-based liquid mosquito repellent inhalation on the blood-brain

barrier function and oxidative damage in selected organs of developing rats. *J. Appl. Toxicol.*, 19: 67-72.

17.Gültekin F, Öztürk M, Akdoğan M, (2000) : The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Arch. Toxicol.*, 74: 533-538.

18.Gültekin F, Delibaş N, Yaşar S, Kılınç İ, (2001) : In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Arch. Toxicol.*, 75: 88-96.

19.Güven A, Erginsoy S, Kaya N, (2003) : Kazlarda karbon tetraklorür zehirlenmesinin biyokimyasal ve patolojik parametrelere etkisi. *Kafkas Ü. Vet. Fak. Derg.*, 9: 131-136.

20.Janssen YMW, Houten BV, Borm PJA, Mossman BT, (1993) : Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab. Invest.*, 69: 261-274.

21.Joence H, (1989) : Genetic toxicology of oxygene. *Mutation Res.*, 219: 193-208.

22.Kale M, Rathore N, John S, Bhathagar D, (1999) : Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alteration in antioxidant status in rat erythrocytes. A possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicol. Lett.*, 105: 197-205.

23.Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıkgöz F, (2002) : Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats : the protective effect of vitamin E. *Toxicology*, 202: 227-235.

24.Kanthasamy AG, Ardel B, Malave A, Mills EM, Powley TL, Borowitz JL, Isom GE, (1997) : Reactive oxygen species generated by cyanide mediated toxicity in rat pheochromocytoma cells. *Toxicol. Lett.*, 93: 47-54.

25.Kawanishi S, Hiraku Y, Murata M, Oikawa S, (2002) : The role of metals in site-specific DNA damage with reference to carcinogenesis. *Free Radical Biol. Med.*, 32: 822-832.

26.Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A, (1998) : Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. *Medisan Yayın Serisi*: 35, Ankara, s. 222, 232, 273, 276, 355.

27.Kehrer JP, (1993) : Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Crit. Rev. Toxicol.*, 23: 21-48.

28.Koner BC, Banerjee BD, Ray A, (1998) : Organochlorine pesticide-induced oxidative stress and immune suppression in rats. *Indian J. Exp. Biol.*, 36:395-398.

29.Krajcovicova-Kudlackova M, Paukova V, Bacekova M, Dusinska M, (2004) : Lipid peroxidation in relation to vitamin C and vitamin E levels. *Cent. Eur. J. Public Health.*, 12:46-48.

30.Liu J, Kadiiska MB, Corton JC, Qu W, Waalkes M, Mason RP, Liu Y, Klaassen CD, (2002) : Acute cadmium exposure induces stress-related gene expression in wild-type and metallothionein-I/II-null mice. *Free Radical Biol. Med.*, 32: 525-535.

31.Lunec J, (1990) : Free radicals: their involvement in disease processes. *Ann. Clin. Biochem.*, 27: 173-182.

32.Maiti PK, Kor A, Gupta P, Chaurassia SS, (1995) : Loss of membrane integrity and inhibition of type-1 iodothyronine 5-monoeiodinase activity by fenvalerate in female mouse. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 214: 905-909.

33.Matés JM, (2000) : Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153: 83-104.

34.McCay PB, Lai EK, Payer JL, Dubose CM, Janzen EG, (1984) : Oxygen and carbon centered radical formation during carbon tetrachloride metabolism. *J. Biol. Chem.*, 259: 2135-2143.

35.Mollace V, Lannone M, Muscoli C, Palma E, Granato T, Rispoli V, Nistico R, Rotiroti D, Salvemini D, (2003) : The role of oxidative stress in paraquat-induced neurotoxicity in rats: protection by non peptidyl superoxide dismutase mimetic. *Neurosci. Lett.*, 335: 163-166.

36.Nagy IZ, (1990) : Chemistry, toxicology, pharmacology and pharmacokinetics of idebenone : a review. *Arch. Gerontol. Geriat.*, 11: 177-186.

37.Niki E, (1987) : Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phy. Lipids*, 44: 227-253.

38.Özdem SS, Şadan G, (1994) : Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Ü. Tıp Fak. Derg.*, 11: 63-71.

39.Paula EM, Mathangi DC, Namasivayam A, (2003) : Free radical changes in methanol toxicity. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, 47: 207-211.

40.Placer CA, Cushman LL, Johnson BC, (1990) : Estimation of product of lipid peroxidation (Malondy Dialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.*, 16: 259-264.

41.Pohl LR, Mico BA, (1984) : Electrophilic halogens as potentially toxic metabolites of halogenated compounds. *Trends Pharmacol. Sci.* 5: 61-64.

42.Porter NA, (1984) : Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, 105: 273-283.

43.Rahman IU, Massaro D, (1992) : Endotoxin treatment protects rats against ozone-induced lung edema: with evidence for the role of manganese superoxide dismutase. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 113: 13-18.

44.Rao MV, Avani G, (2004) : Arsenic induced free radical toxicity in brain of mice. *Indian J. Exp. Biol.*, 42: 495-498.

45.Rzeuski R, Chlubek D, Machoy Z, (1998) : Interactions between fluoride and biological free radical reactions. *Fluoride*, 31: 43-45.

46.Shanthakumari D, Srinivasalu S, Subramanian S, (2004) : Effect of fluoride intoxication on lipid peroxidation and antioxidation status in experimental rats. *Toxicology*, 204: 219-228.

47.Shivarajashankara YM, Shivashankara AR, Rao SH, Bhat PG, (2001) : Oxidative stress in children with endemic skeletal fluorosis. *Fluoride*, 34: 103-107.

48.Sinclair AJ, Barnett AH, Junec J, (1990) : Free radicals and antioxidant systems in health and disease. British J. Hosp. Med., 43: 334-344.

49.Soltaninejad K, Kebriaeezadeh A, Minaiee B, Ostad SN, Hosseini R, Azizi E, Abdollahi M, (2003) : Biochemical and ultrastructural evidences for toxicity of lead through free radicals in rat brain. Hum. Exp. Toxicol., 22: 417-423.

50.Spallholz JE, (1994) : On the nature of selenium toxicity and carsinostatic activity. Free Radical Biol. Med., 17: 45-64.

51.Stombeck DR, Guilford WG, (1990) : Small Animal Gastroenterology. 2nd edit. Stongate publishing Co., California.

52.Swierczynski J, Kochan Z, Mayer D, (1997) : Dietary α -tocopherol prevents dehydropiandrosterone-

induced lipid peroxidation in rat liver microsomes and mitochondria. Toxicol. Lett., 91: 129-136.

53.Şener S, Yıldırım M, (2000) : Toksikoloji, Teknik Yayıncılık, İstanbul, s. 42.

54.Urani C, Crippa S, Camatini M, (1998) : Cellular and molecular responses of metal-induced toxicity. Toxicol. Lett., suppl. 1:195.

55.Vural N, (1984) : Toksikoloji. A. Ü. Ecz. Fak. Yay. No 56, Ankara, s.179, 384, 464.

56.Yagi K, (1994) : Lipid peroxidase and related radicals in clinical medicine. (in) Free Radicals in Diagnostic Medicine. D Armstrong (Editor), pp. 17-27, Plenum Press, New York.

57.Zhou JF, Zhou W, Zhang SM, Luo YE, Chen HH, (2004) : Oxidative stress and free radical damage in patients with acute dipterex poisoning. Biomed. Environ. Sci., 17: 223-233.