

# ضایعات ناشی از اعاده مجدد جریان خون و نقش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در ایجاد آن

مهری کدخدائی

دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

## چکیده

در دهه اخیر مطالعات زیادی پیشنهاد می‌نماید که رادیکال‌های آزاد مشتق از اکسیژن نقش عمده‌ای در پاتورنژ ضایعات ناشی از اعاده مجدد جریان خون (Reperfusion Injury (RI ایفا می‌نماید. اولین شواهد بر اساس نتایج غیر مستقیمی به دست آمد که حاکی از اثرات مفید آنتی‌اکسیدان‌ها پس از دوره ایسکمی در زمان پرفیوژن مجدد بوده است. در برخی از مطالعات، این رادیکال‌ها به صورت موضعی شناسایی شد و همچنین تولید شیمیایی این رادیکال‌ها توانست ضایعات سلولی مشابه RI ایجاد نماید. استفاده از تکنیک‌های جدیدتر در شناسایی مستقیم و تعیین مقدار این رادیکال‌ها، نقش آنها را در ایجاد RI و نیز تولید انفجاری‌شان را در اولین ثانیه‌های جریان مجدد خون به صورت جدی‌تر مطرح می‌نماید.

تاکنون چندین فاکتور در پاتورنژ این پدیده مطرح گردیده‌اند که با پیشرفت تحقیقات و شناسایی مکانیسم‌های گوناگونی شامل دخالت سلول‌های آندوتلیال، اندوتلین، نیتریک اکساید، سیتوکین‌ها و نوتروفیل‌ها و ارتباط تمامی این فاکتورها با رادیکال‌های آزاد اکسیژن بر پیچیدگی RI افزوده می‌شود. آشنایی با مکانیسم‌های دخیل در پاتوفیزیولوژی آسیب‌های ناشی از برقراری مجدد جریان خون و نیز شرایط کلینیکی مربوطه که در نهایت موجب پیشرفت این ضایعات می‌شوند، می‌تواند سبب آگاهی بیشتر کلینیسین‌ها در جهت جلوگیری از RI گردد.

این بررسی مروری، نگاهی مختصر به تغییرات سلولی ایجاد شده در دوره ایسکمی و ایجاد مجدد جریان خون داشته و نیز نقش احتمالی رادیکال‌های آزاد اکسیژن را در ایجاد این تغییرات و راه‌های پیشگیری از آنها را مطرح می‌نماید. بایستی متذکر گردد که میزان و چگونگی دخالت این رادیکال‌ها در آسیب‌های متعدد ایجاد شده در بافت‌ها هنوز هم مورد مطالعه گسترده‌ای می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** ایسکمی، جریان مجدد، رادیکال‌های آزاد اکسیژن، آسیب سلولی.

## مقدمه

نقش رادیکال‌های مشتق از اکسیژن در ایجاد ضایعات بافتی ناشی از Reperfusion در اندام‌های

بسیاری مورد بررسی قرار گرفته است. در جریان ایسکمی مکانیسم‌های دفاعی بدن تغییر یافته و در خلال خون‌رسانی مجدد تولید مواد سمی بسیاری از جمله رادیکال‌های آزاد اکسیژن به شدت افزایش می‌یابد. در سال‌های اخیر، این رادیکال‌ها به توسط مدل‌های تحقیقاتی و تکنیک‌های مختلف شامل روش‌های شیمیایی، هیستوشیمیایی و اسپکتروسکوپی رزونانس پارامغناطیسی الکترونی (EPR) مورد شناسایی قرار گرفته [۳ - ۱] و با استفاده از داروهای آنتی‌اکسیدان و روش‌های مکانیکی سعی در به حداقل رساندن اثرات سمی آنها شده است [۵ - ۴]. اگر چه نتایج همه بررسی‌ها در تعیین میزان دخالت این رادیکال‌ها در اختلالات ناشی از ایسکمی و پرفیوژن مجدد یکسان نمی‌باشد ولی نقش مرکزی آنها در ایجاد این ضایعات مورد تأکید می‌باشد [۶].

**ایسکمی چیست؟ - ایسکمی با مفهوم کاهش و یا قطع جریان خون اندام‌ها از مهم‌ترین مسائلی است که هر روزه در دنیای پزشکی با آن مواجهیم. به این ترتیب که انفارکتوس میوکارد، نارسایی حاد کلیوی ناشی از ایسکمی، جراحی‌های قلبی، آمبولی، انسداد عروقی و پیوند اعضا همه مواردی هستند که در آنها در یک دوره‌ای جریان خون به اندام قطع و آن عضو دچار ایسکمی می‌شود.**

پیشرفت‌های طب مدرن موجب شده که با بسیاری از دوره‌های ایسکمی توسط روش‌های فارماکولوژیک و یا جراحی مقابله شود، با این هدف که با رفع انسداد و برقراری مجدد پرفیوژن جلوی Infarction و نکروز سولی در بافت ایسکمیک گرفته شود اما شواهد زیادی هم نشان می‌دهد که این عمل یعنی Reperfusion نواحی ایسکمیک به ویژه اکسیژن‌رسانی مجدد علاوه بر آنکه در بسیاری از موارد مفید نیست بلکه می‌تواند موجب

صدمات بافتی بیشتری هم بشود [۷].

آیا Reperfusion تنها به یک روند انهدامی که از قبل و در دوره ایسکمی شروع شده است، شتاب می‌بخشد؟ یا پرفیوژن مجدد یک مرحله پاتولوژیک و بیوشیمیایی جداگانه‌ای است که خود می‌تواند موجب انهدام بافت و مرگ سلول‌ها شود. حقیقت آنست که در دوره ایسکمی تعدادی از سلول‌ها به سبب آنوکسی تغییراتی می‌یابند. اگر دوره ایسکمی خیلی طولانی نباشد، این سلول‌ها هنوز زنده بوده و اصطلاحاً Viability دارند، در حالیکه درصد کمتری به صورت غیر قابل برگشت صدمه دیده و نکروزه خواهند شد [۸].

در زمان Reperfusion سلول‌های دسته اول تغییرات دوره ایسکمی را جبران کرده و عمل طبیعی خود را در پیش خواهند گرفت و یا در مواردی به گروه دوم پیوسته و نکروزه می‌شوند. پر واضح است که اگر دوره ایسکمی خیلی طولانی باشد، منجر به مرگ همه سلول‌ها خواهد شد [۹ و ۱۰].

تغییراتی که به دوره ایسکمی متسبب است شامل: موارد ذیل می‌باشد:

- کاهش ترکیبات فسفات دار پر انرژی و از بین رفتن تعادل یونی و الکتریکی غشاء
- تجمع مواد زائد متابولیک در سلول‌ها
- ناتوانی سلول‌ها در ساخت ATP و کراتین فسفات

### Reperfusion و ضایعات ناشی از آن

در مطالعات کلینیکی نشان داده شده است که پرفیوژن زود هنگام (Early Reperfusion) در میوکاردیوم اندازه ناحیه دچار انفارکتوس را کاهش داده و مرگ و میر را کم کرده است [۱۱].

نکته مسلم آن است که ایسکمی بایستی هر چه

## Archive of SID

- شتاب گرفتن نکرورز بافتی
- نشت و Leakage آزیم‌ها
- فعال شدن لکوسیت‌های فراخوانده شده به ناحیه
- بهم خوردن تعادل کلسیمی

چنانکه ملاحظه می‌شود، تبعات ایجاد شده متعاقب Reperfusion از ضایعات ناشی از ایسکمی مجزا است ولی مسلم است که هر چه دوره ایسکمی بیشتر باشد، میزان ضایعات ایجاد شده در دوره Reperfusion بیشتر خواهد بود. مکانیسم‌های متعددی در ایجاد RI مسئول شناخته شده‌اند که اهم آنها عبارتند از:

- ۱- تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن (OFR) و کمبود آنتی‌اکسیدان‌ها
- ۲- اختلال تعادل یونی بین دو سوی غشاء
- ۳- انباشته شدن کلسیم در داخل سلول‌ها
- ۴- نوتروفیل‌ها و ضایعات ناشی از آنها
- ۵- از دست رفتن و کاهش ترکیبات پر انرژی
- ۶- از دست رفتن وسیع پروتئین‌های سلولی
- ۷- تغییرات ایجاد شده در غشاء اندام‌های داخل سلولی

با توجه به عنوان این مقاله از میان مکانیسم‌های فوق، مکانیسم اول که همانا تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ضایعات ناشی از آنها در جریان RI است مورد بحث بیشتر قرار می‌گیرد.

## اکسیژن و رادیکال‌های مشتق از آن

اکسیژن در بین همه عناصر منحصر به فرد است. چراکه هم برای زندگی حیاتی و ضروری است و هم به جهت دخالت در ضایعات اکسیداتیو برای سلول‌ها مضر می‌باشد. اکسیژن آزاد در حدود دو میلیارد سال قبل در

زودتر خاتمه پیدا کند و به عبارت دیگر پرفیوژن سریع ضروری است تا بتواند جلوی مرگ سلول‌ها را گرفته و اعمال آنها را حفظ کند اما تکنیک‌های مورد استفاده از قبیل Thrombolytic therapy و جراحی همیشه هم مفید نیست و خود می‌تواند موجب صدماتی به میوکاردیوم شده و به نحوی که بیشتر از ضایعات ناشی از ایسکمی باشد. پرفیوژن مجدد، همراه با ضایعات ساختمانی و عملکردی (Structure & Function) می‌باشد که در مجموع این ضایعات به Reperfusion Injury موسوم است [۸].

این اصطلاح برای اولین بار در سال ۱۹۳۵ توسط Tennant مطرح شد که وی تغییرات ملاحظه شده در قلب ری پرفیوژه شده را توصیف کرد [۱۲]. بیشتر از یک دهه است که محققین با این اصطلاح بر خورد بسیار داشته‌اند. رشد تکنولوژی‌های بیولوژی ملکولی، ایمونولوژی، بیولوژی سلولی و بیوشیمی کمک زیادی به درک و درمان این مسأله نموده است ولی بسیاری از تحقیقات در این زمینه هنوز مراحل اولیه را می‌گذرانند.

از سوی دیگر روشن است که اگر چه Reperfusion موجب ایجاد ضایعات در اندام‌های ایسکمیک می‌شود ولی مسلم است که بایستی خون مجدداً به بافت ایسکمیک برگردانده شود. به این جهت بایستی به دنبال روش‌هایی بود که RI کنترل شود. به دلیل پیچیده بودن اثرات خون‌رسانی مجدد و تغییرات بافتی ناشی از آن روش‌های مختلفی برای جلوگیری و یا کاهش RI مطرح می‌باشد.

تغییراتی که به طور عمده به Reperfusion نسبت داده می‌شود شامل اجزاء زیر است:

- Endothelial dysfunction یا اختلال در عملکرد طبیعی لایه آندوتلیال

در سلول‌ها مواد خطرناک‌تری مثل پراکسی نیتریت ( $\text{ONOO}^-$ ) تولید می‌شوند که طی واکنش‌هایی در نهایت تولید رادیکال هیدروکسیل می‌نماید. رادیکال هیدروکسیل از راکتیوترین موادی است که تاکنون شناخته شده است. اکنون حدود نیم قرن است که  $\text{O}^\bullet\text{H}$  به عنوان یک واسطه مهم در پدیده‌های بیولوژیک و در مرگ سلولی ناشی از داروها و یا Reperfusion مطرح می‌باشد. این رادیکال دارای نیمه عمری کمتر از  $10^{-12}$  ثانیه است که به محض تشکیل با سرعت بالایی با ملکول مشابه خود ترکیب شده و  $\text{H}_2\text{O}_2$  تولید می‌نماید و یا با ملکول‌های مجاور از قبیل کربوهیدرات‌ها، آمینواسیدها، اسیدهای ارگانیک و لیپیدها با سرعت بالایی ترکیب می‌شود که معمولاً تشکیل یک رادیکال جدید را در پی خواهد داشت. نتیجه این واکنش‌ها ضایعات شناخته شده‌ای از قبیل DNA injury، Lipid Peroxidation و Protein degradation می‌باشد. با این مشخصات شواهد بسیاری دخالت رادیکال‌های آزاد اکسیژن را در بیماری‌های اتوایمیون، آرتریت روماتوئید، سرطان، آترواسکلروز، پارکینسون، دیابت و غیره مطرح می‌سازد [۲۰-۲۲].

#### تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بدن انسان :

OFR به طور مداوم توسط متابولیسم هوازی در بدن تولید می‌شود [۲۳]. همچنین متعاقب انواع ضربه (trauma)، هیپوکسی و تشعشع در بدن انسان ایجاد می‌شود. تولید OFR می‌تواند کاملاً اتفاقی باشد مثل تولید  $\text{O}^\bullet\text{H}$  توسط اشعه‌های یونیزه کننده و یا قابل پیش‌بینی باشد مثل تولید مداوم سوپراکسید توسط زنجیره انتقال الکترونی در میتوکندری یا رتیکولوم آندوپلاسمیک سلول‌ها. در بدن گزانتین اکسیداز (Xanthine Oxidase, XO) اولین منبع بیولوژیک شناخته

اتمفسر زمین ظاهر شد و چنانکه می‌دانیم همه حیوانات و گیاهان هوازی برای زنده ماندن و تولید انرژی نیاز به اکسیژن دارند.

طبق تعریف رادیکال آزاد ملکول یا اتمی است که یک یا دو الکترون جفت نشده دارد ولی در عین حال می‌تواند وجودی مستقل از سایر ملکول‌ها داشته باشد. واژه رادیکال آزاد اکسیژن مربوط به رادیکال‌های مختلفی است که از اکسیژن منشاء می‌گیرند [۱۳].

طبق تعریف فوق، خود ملکول دی اتمیک اکسیژن از آنجایی که دو الکترون جفت نشده دارد، یک رادیکال است. اگر یک الکترون به اربیت خارجی ملکولی آن اضافه شود، تبدیل به رادیکال فعال‌تری به نام سوپر اکساید ( $\text{O}_2^-$ ) می‌شود که می‌تواند ضایعات بیولوژیک قابل ملاحظه‌ای ایجاد کند. سوپر اکسید به عنوان پیش ساز اصلی سایر OFR می‌باشد [۱۴].

اضافه شدن یک الکترون دیگر به سوپر اکسید ( $\text{O}_2^{2-}$ ) تولید یون پراکسید  $\text{O}_2^{2-}$  می‌نماید که در سیستم‌های بیولوژیک این واکنش ایجاد هیدروژن پراکسید ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) می‌نماید. این واکنش به توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide Dismutase, SOD) انجام گرفته و هیدروژن پراکسید حاصله اگر چه یک رادیکال نیست ولیکن از نظر شیمیایی فعال و Reactive است [۱۵].

در مرحله بعد از واکنش سوپراکسید  $\text{H}_2\text{O}_2$  رادیکال هیدروکسیل ( $\text{O}^\bullet\text{H}$ ) به دست می‌آید که خطرناک‌ترین رادیکال‌هاست [۱۶-۱۹]. همچنین روندهای سیتوتوکسیک در سلول‌ها به فعال شدن نیتریک اکساید سنتتاز (NOS) می‌انجامد. میزان تولید NO می‌تواند در میزان صدمه سلولی دارای نقش باشد.

علاوه بر آن از ترکیب سوپراکسید و نیتریک اکسید

Archive of SID

در خلال ایسکمی ATP پس از مراحل نهایی به هیپوگزانتین تبدیل می‌شود و در همین زمان آنزیم گزانتین دهیدروژناز هم به فرم اکسیداز در می‌آید در زمان Reperfusion و در حضور گزانتین اکسیداز، اکسیژن به هیپوگزانتین ملحق شده و رادیکال‌های آزاد اکسیژن را تولید می‌نماید که می‌تواند منجر به ضایعات سلولی بشود. به نظر می‌رسد اوج تولید OFR در اولین دقایق Reperfusion Injury است ولی این تولید تا حد پائینی برای ساعت‌ها ادامه دارد.



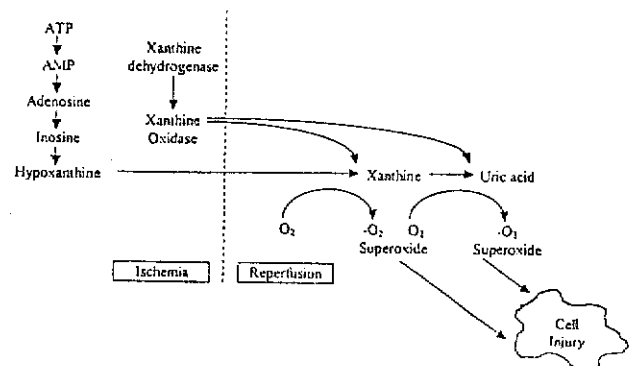
غلظت پایین رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد شده در جریان متابولیسم اکسیداتیو طبیعی بدن، توسط آنتی اکسیدان‌های طبیعی موجود بدن خنثی شده و اثرات مخربی ایجاد نمی‌نماید. در خلال ایسکمی به هر حال مکانیسم‌های دفاعی بر علیه OFR تغییر می‌یابد. در جریان Reperfusion هم تولید OFR بالا می‌رود و هم از طرف مقابل غلظت آنتی اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد لذا گفته می‌شود که تولید انفجاری و انبوه رادیکال‌های آزاد اکسیژن در زمان خون‌رسانی مجدد بر دفاع طبیعی بدن غلبه می‌نماید [۲۷-۲۹].

محل تولید، غلظت و میزان فعالیت رادیکال‌های ایجاد شده سطح ضایعات را مشخص می‌نماید. از طرف مقابل همین فاکتورها برای آنتی اکسیدان‌ها هم برای مؤثر بودن وجود دارد. آنتی اکسیدان‌ها برای مؤثر بودن باید در زمان صحیح، محل صحیح و غلظت کافی وجود داشته باشند [۳۰].

اثبات مؤثر بودن و نقش داشتن رادیکال‌های آزاد

شده سوپر اکسید است که به دو فرم اکسیداز و دهیدروژناز وجود دارد [۲۴]. هر دو آنزیم، اکسیداسیون گزانتین و هیپوگزانتین را به اسید اوریک کاتالیز می‌نمایند. مطالعات ایمونوهیستوشیمیایی نشان داده است که این آنزیم در بافت‌های طبیعی ۱۰٪ به صورت اکسیداز و ۹۰٪ به صورت دهیدروژناز است که این نوع دوم نمی‌تواند تولید سوپر اکسید بنماید.

در زمان ایسکمی و هیپوکسی شکسته شدن ترکیبات پرانرژی موجب تجمع متابولیت‌های گزانتین و هیپوگزانتین در سلول نمی‌شود [۲۵]. در همین زمان از دست رفتن انرژی باعث توقف عمل پمپ‌های سدیمی و یا کلسیمی غشاء شده و از خروج  $Ca^{++}$  از سلول جلوگیری می‌نماید. در داخل سلول کلسیم و کالمودولین می‌توانند پروتئازها و کینازها را فعال نمایند که به توسط آنها تشکیل گزانتین اکسیداز تسریع می‌شود. در چنین صورتی برای ایجاد OFR تنها به اکسیژن نیاز است که آنهم با پرفیوژن مجدد و برقراری جریان خون اکسیژنه فراهم می‌آید [۲۶].



شکل ۱- تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن توسط مسیر گزانتین اکسیداز

## Archive of SID

ضایعات آنست که جریان خون هر چه زودتر برقرار شده و به ایسکمی خاتمه داده شود که در این ارتباط تاکنون داروهای ترمبولیتیک و جراحی‌ها به طور موفقیت آمیزی مورد استفاده قرار گرفته است. در زمان پرفیوژن مجدد، روش‌های درمانی بیشتر بر افزودن کارآیی اکسیژن رسانی دوباره تأکید دارد و لذا در تحقیقات مربوطه داروها و روش‌های ذیل جهت کاهش RI مطرح و مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند:

#### ۱- آنتی اکسیدان‌ها و Scavenger های رادیکال‌های آزاد اکسیژن

این داروها به دو گروه آنزیم‌ها و ملکول‌های کوچک (غیر آنزیم‌ها) تقسیم می‌شوند. از جمله آنزیم‌هایی که با نقش آنتی اکسیدانی شناخته شده‌اند، می‌توان به کاتالاز، سوپراکساید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز اشاره نمود. ملکول‌های کوچک هم از منابع طبیعی و هم از منابع سنتتیک منشاء می‌گیرند که از این دسته ویتامین E را می‌توان نام برد. در این زمینه مطالعات فراوانی پیشنهاد نموده است که استفاده از این داروها قبل از شروع پرفیوژن مجدد می‌تواند بسیار مفید باشد [۳۸].

#### ۲- تثبیت کننده‌های غشاء سلولی

از آنجائی که متعاقب Reperfusion اختلال علمکرد رتیکولوم سارکوپلاسمیک و یا صدمات غشائی دیده می‌شود، کاربرد این داروها و یا محلول‌های هیپرتونیک موجب کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و در نتیجه جلوگیری از ضایعات غشائی می‌شود. متعاقب تشکیل رادیکال‌ها، افزایش نفوذپذیری غشائی، ورود کلسیم به سلول‌ها و از دست رفتن تنظیم حجم سلولی باعث پاره شدن غشاء شده و همچنین در پی پراکسیداسیون چربی‌ها عمل دترجنتی بسیاری از مواد

اکسیژن در ایجاد ضایعه در بافت‌ها معمولاً به یکی از طرق زیر صورت می‌گیرد:

۱- شناسایی مستقیم OFR در بافت مورد مطالعه [۳۱] و یا وجود ضایعاتی از قبیل پراکسیداسیون چربی‌ها که در نتیجه اثر OFR صورت می‌گیرد [۳۲].

۲- مؤثر بودن آنتی اکسیدان‌ها و Scavenger های رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کاهش ضایعات [۳۳-۳۴].

۳- رادیکال‌های آزاد اکسیژن که به طور سنتتیک ساخته می‌شوند، می‌توانند اثری مشابه Reperfusion در ایجاد ضایعه داشته باشند [۳۵].

در مقالات متعددی طی ده سال اخیر نقش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در Reperfusion Injury مورد مطالعه قرار گرفته است. با توجه به این مطالعات، شواهد قوی بر دخالت این رادیکال‌ها در ایجاد ضایعات سلولی و بافتی وجود دارد [۳۶-۳۷]. ولی اهمیت واقعی تشکیل این رادیکال‌ها و شدت آن هنوز تحت بررسی می‌باشد.

#### راه‌های درمان

در سال‌های اخیر مکانیسم‌های فارماکولوژیک و مکانیکی مختلفی برای کاهش عوارض و مرگ و میر ناشی از ایسکمی و پرفیوژن مجدد اندام‌ها بکار گرفته شده است. برای سال‌ها هیپوترمی توسط متخصصین جراحی قلب و پیوند برای محافظت بافت مورد نظر بوده و همچنین استفاده از محلول‌های پرزرواسیون مناسب دارای اهمیت بوده است. اخیراً با توجه مطرح شدن نقش استرس اکسیداتیو، توجه به سوی داروهای جلب شده که با از تولید رادیکال‌ها جلوگیری کرده و یا در صورت تولید آنها را از بین می‌برند. البته اولین راه مقابله با

این مطلب می‌تواند کاربرد خوبی در پیوند اندام‌ها داشته باشد [۲۰].

از دیگر موارد درمانی بلوک فعالیت نوتروفیل‌ها، Reperfusion تدریجی، Reperfusion با مایع کم اکسیژن، کاربرد داروهای شلات کننده آهن، ممانعت کننده‌های تشکیل پروتئازها، مهار کننده‌های آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین و عنصر روی را می‌توان نام برد [۴۱].

در خاتمه بایستی یادآور شد که اگر چه شواهد دخالت استرس اکسیداتیو در RI بسیار قوی است ولی چنانکه ذکر شد به دلیل نتایج متفاوت در مطالعات مختلف، قضاوت در باره بهترین درمان‌ها نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

موجب صدمه غشاء می‌شود [۳۵].

### ۳- آنتاگونیست‌های کلسیم

این داروها می‌توانند موجب تضعیف چندین مکانیسم دخیل در RI بشوند. در جریان ایسکمی کلسیم به شدت افزایش یافته و آنتاگونیست‌هایی همچون وراپامیل، نیفدیپین و دیلتیازم با اتساع عروقی، افزایش خون‌رسانی، کاهش انقباض و کم کردن نیاز به اکسیژن عمل می‌نمایند [۳۹].

### ۴- آماده سازی بافتی یا Preconditioning:

این مکانیسم که اخیراً مورد توجه بسیار قرار گرفته است شامل: چندین دوره کوتاه مدت ایسکمی می‌باشد که نهایتاً مقاومت بافت را به ایسکمی بعدی بیشتر می‌کند.

## منابع

- [1] Kadkhodace, M., Endre, Z.H., Towner, R.A. and Cross, M., Hydroxyl radical generation following ischaemia-reperfusion in cell-free perfused rat kidney, *Biochem Biophys Acta*, 1243 (1995) 169-174.
- [2] Kadkhodae, M., Hanson, G.R., Towner, R.A. and Endre, Z.H., Detection of hydroxyl and carbon-centred radicals by EPR spectroscopy after ischaemia and reperfusion in isolated perfused rat kidney, *Free Rad.*, 25 (1996) 31-42.
- [3] kadkhodae, M., Gobe, G.C., Willgoss, D.A. and Endre, Z.H., DNA fragmentation reduced by antioxidants following ischaemia-reperfusion in the isolated perfused rat kidney, *Nephrology*, 4 (1998) 163-175.
- [4] kadkhodae, M., Dissociation of structure and function after ischaemia-reperfusion injury in the isolated perfused rat kidneys, *Acta Medica Iranica*, 37 (1999) 139-149.
- [5] Zhang, B., Gobe, G.C., Kadkhodae, M., Willgoss, D. and Endre, Z.H., Repetitive brief ischaemia-reperfusion in the kidney: ischaemia-reperfusion in the kidney in vitro and in vivo, *Ren. Fail.*, 19 (1997) 854-855.
- [6] Bonventre, J.V., Mechanisms of ischaemic acute renal failure, *Kidney Int.*, 43 (1993) 1160-1178.
- [7] Das, D.K. and Engelman, R.M., Mechanism of free radical generation during reperfusion of ischaemic myocardium, In: *Oxygen radicals Systemic events and disease processes*, (Edited by Das, D.K. and Essman, W.B.), Karger, Basel, (1990) 97.
- [8] Maxwell S.R.J. and Lip, G.Y.H., Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options, *Int. J. Cardiol.*, 58 (1997) 95-117.
- [9] Endre, Z.h. and Ratcliffe, P.J., Patterns of ischaemic renal cell injury, In: *Acute renal failure diagnosis, treatment and prevention*, (Edited by Solez, K. and Racusen, L.C.), Marcel Dekker, New York, (1991) 173.

## Archive of SID

- [10] Flaherty, J.T., Myocardial injury mediated by oxygen free radicals, *Am. J. Med.*, 91 (1991) 79-85.
- [11] Faherty, J.T., Weisfeldt, M.D., Bulkley, B.H., Gardner, T.J., Gott, V.L. and Jacobus, V.E., Mechanisms of ischaemic myocardial cell damage assessed by phosphorus 31 nuclear magnetic resonance, *Circulation*, 65 (1982) 561-571.
- [12] Tennant, R., Factors concerned in arrest of contraction in ischemic myocardial area, *Am. J. Physiol*, 113 (1935) 677-682.
- [13] Groot, H., Reactive oxygen species in tissue injury, *Hepato-Gastroenterol*, 41 (1994) 328-332.
- [14] Freischlag, J.A. and Hanna, D., Superoxide anion release ( $O_2^-$ ) after ischaemia and reperfusion, *J. Surg. Res.*, 50 (1991) 565-568.
- [15] Greene, E.L. and Paller, M.S., (1991) oxygen free radicals in acute renal failure, *Miner Electrolyte Metab*, 17 (1991) 124-132.
- [16] Kaur, H. and Halliwell, B., Detection of hydroxyl radicals by aromatic hydroxylation, *Methods Enzymol*, 233 (1994) 67-82.
- [17] Willson, R.L., Hydroxyl radicals and biological damage in vitro: what relevance in vivo? In: *Oxygen free radicals and tissue damage*, (Edited by Willson R.L.), Excerpta Medica, Amsterdam, (1979) 19.
- [18] Parks, D.A. and Granger, D.N., Ischaemia-induced vascular changes: role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals, *Am. J. physiol*, 254 (1983) 285-289.
- [19] Onodera, T. and Ashraf, M., Detection of hydroxyl radicals in the post-ischaemic reperfused heart using salicylate as a trapping agent, *J. Mol. Cell Cardiol*, 23 (1991) 365-370.
- [20] Halliwell, B., Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet*, 344 (1994) 721-724.
- [21] Halliwell, B., Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease, *Am. J. Med.*, 91 (1991) 14-22.
- [22] Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., *Free radicals in biology and medicine*, Clarendon Press, London, (1989).
- [23] Ichikawa, I., Kiayma, S. and Yoshioka, T., Renal antioxidant enzymes: their regulation and function, *Kidney Int.*, 45 (1994) 1-9.
- [24] Sussman, M. and Bulkley, G.B., Oxygen-derived free radicals in reperfusion injury, *Methods Enzymol*, 186 (1990) 711-723.
- [25] Paller, M.S., Hoidal, R. and Ferris, T.F., Oxygen free radicals in ischaemic acute renal failure in the rat, *J. Clin. Invest*, 74 (1984) 1156-1164.
- [26] Ashraf, M. and Samra, Z.Q., Subcellular distribution of xanthine oxidase during cardiac ischaemia and reperfusion: and immunocytochemical study, *J. Submicrosc Cytol. Pathol.*, 25 (1983) 193-201.
- [27] Kurose, I. And Granger, D.N., Evidence implicating xanthine oxidase and neutrophils in reperfusion-induced microvascular dysfunction, *Ann., N. Y. Acad*, 723 (1994) 158-179.
- [28] Andreoli, S.P. and McAteer, J.A., Reactive oxygen molecule-mediated injury in endothelial and renal tubular epithelial cells in vitro, *Kidney Int.*, 38 (1990) 785-894.
- [29] Rice-Evans, C.A., Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states, In: *Free radicals damage and its control*, (Edited by Rice-Evans, C.A. and Burdon, R.H.), Elsevier Science, Amsterdam, (1994) 131.
- [30] Ambrosio, G. and Chiariello, M., Myocardial reperfusion injury: Mechanisms and management-A review, *Am. J. Med.*, 91 (1991) 86-88.
- [31] Baker, J.E., Felix, C.C., Olinger, G.n. and Kalyanaraman, B., Myocardial ischaemia and reperfusion: Direct evidence for free radical generation by electron spin resonance spectroscopy, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A* 85 (1988) 2786-2789.
- [32] Cheeseman, K.H., Lipid peroxidation and cancer, In: *DNA and free radicals*, (Edited by Halliwell, B. and Aruoma, O.I.), Ellis Horwood, New York, (1993) 109.



## Archive of SID

- [33] Baron, P., Gugliuzza, K., Rajaraman, S and Thompson, J.C., Ceruloplasmin and desferoxamine prevent ischaemia-reperfusion damage in kidney transplantation, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 723 (1994) 401-402.
- [34] Barta, E., Pechan, I., Cornak, V., Luknarova, O., Rendekova, V. and Verchovodko, P., Protective effect of alpha-tocopherol and L-ascorbic acid against the ischaemic-reperfusion injury in patients during open-heart surgery, *Bratisl Lek. Listy*, 92 (1991) 174-183.
- [35] Chaudiere, J., Some chemical and biochemical constraints of oxidative stress in living cells, In: *Free radical damage and its control*, (Edited by Rice-Evans, C.A. and Burdon, R.H.), Elsevier Science, Amsterdam, (1994) 25.
- [36] Baud, L. and Ardaillou, R., Involvement of reactive oxygen species in kidney damage, *Br. Med. Bull.*, 49 (1993) 621-629.
- [37] Linas, S.L., Whittenburg, D., Parsons, P.E. and Repine, J.E., Mild renal ischaemia activates primed neutrophils to cause acute renal failure, *Kidney Int.*, 42 (1992) 610-616.
- [38] Canas, P.E., The role of xanthine oxidase and effects of antioxidants in ischaemia reperfusion injury, *Acta Physiol. Pharmacol. Ther. Latinoam.*, 49 (1999) 13-20.
- [39] Ambrosio, G., Calcium antagonists and experimental myocardial ischemic reperfusion, *J. Cardiovasc Pharmacol.*, 20 (1992) 26-29.
- [40] Carden, D.L. and Granger, D.N., Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury, *J. Path.*, 190 (2000) 255-266.
- [41] Ogawa, T. and Mimura, Y. (1999) Antioxidants effects of zinc on acute renal failure induced by ischaemia-reperfusion injury in rats, *Am. J. Nephrol.*, 19 (1999) 609-614.