
POTENSI TERAPEUTIK *Punica granatum* SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI PADA STRES OKSIDATIF YANG DIINDUKSI PLASMA PREEKLAMPSI

Oleh
Januarsih
Poltekkes Kemenkes Banjarmasin
Email: januarsih.januarsih@gmail.com

Article History:

Received: 23-05-2025

Revised: 09-06-2025

Accepted: 26-06-2025

Keywords:

Punica Granatum,
Preeclampsia,
Oxidative Stress,
MDA, *SOD*, *HUVECs*

Abstract: *Preeclampsia is a complication of pregnancy characterised by hypertension and endothelial dysfunction, with oxidative stress as one of its main mechanisms. An imbalance between reactive oxygen species (ROS) and the antioxidant system leads to endothelial cell damage that contributes to disease progression. The main biomarkers of oxidative stress include increased malondialdehyde (MDA) and decreased superoxide dismutase (SOD) activity. Assess the therapeutic potential of Punica granatum extract as a natural antioxidant against oxidative stress in HUVECs endothelial cells exposed to preeclamptic plasma. An in vitro experimental study was conducted using HUVECs cultures divided into five groups: negative control, preeclamptic control, and three treatment groups with 25, 50, and 100 µg/mL doses of Punica granatum extract. Parameters measured were MDA levels and SOD activity. Statistical analysis used one-way ANOVA with Tukey's post hoc test ($p < 0.05$). Exposure to preeclamptic plasma increased MDA levels and decreased SOD activity significantly. Treatment with Punica granatum extract reduced MDA levels and increased SOD activity significantly, especially at a dose of 50 µg/mL which was close to normal control values. Punica granatum extract showed therapeutic potential as a natural antioxidant in reducing oxidative stress due to preeclampsia in HUVECs. This study supports the development of Punica granatum as a phytotherapy candidate in antioxidant-based management of preeclampsia*

PENDAHULUAN

Preeklampsia adalah salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas maternal dan neonatal, yang ditandai dengan tekanan darah tinggi dan adanya proteinuria setelah usia kehamilan 20 minggu. Preeklampsia merupakan salah satu komplikasi kehamilan yang paling serius, ditandai dengan hipertensi dan proteinuria setelah usia kehamilan 20 minggu. Menurut WHO, preeklampsia menyumbang hingga 10–15% dari seluruh kematian ibu di dunia. Patogenesis preeklampsia belum sepenuhnya dipahami, namun bukti kuat menunjukkan bahwa disfungsi endotel yang dipicu oleh stres oksidatif memegang peran sentral dalam perkembangan kondisi ini. Penanganan preeklampsia saat ini masih terbatas,

dengan satu-satunya terapi definitif adalah terminasi kehamilan. Oleh karena itu, penting untuk mengembangkan pendekatan terapi baru yang aman dan efektif, termasuk intervensi berbasis antioksidan alami. Dalam beberapa tahun terakhir, terapi berbasis bahan alam semakin mendapatkan perhatian, terutama yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Salah satu mekanisme patofisiologi yang terlibat dalam preeklampsia adalah stres oksidatif yang berlebihan, yang menyebabkan kerusakan endotel dan disfungsi vaskular. Stres oksidatif ditandai dengan ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kapasitas sistem antioksidan tubuh. Biomarker utama yang menunjukkan stres oksidatif adalah malondialdehyde (MDA), hasil akhir dari peroksidasi lipid, dan superoxide dismutase (SOD), enzim antioksidan penting dalam pertahanan seluler.

Stres oksidatif terjadi ketika produksi spesies oksigen reaktif (ROS) melebihi kapasitas sistem antioksidan tubuh untuk menetralkannya. Ketidakseimbangan ini menyebabkan kerusakan pada lipid, protein, dan DNA seluler. Dalam konteks preeklampsia, stres oksidatif utamanya dipicu oleh hipoksia plasenta dan perfusi ulang, yang menghasilkan ROS dalam jumlah besar dan menginduksi kerusakan endotel sistemik.

Malondialdehyde (MDA) merupakan salah satu biomarker utama dari peroksidasi lipid dan sering digunakan untuk mengevaluasi tingkat stres oksidatif. Di sisi lain, Superoxide Dismutase (SOD) merupakan enzim antioksidan utama yang berperan dalam mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida, yang kemudian didetoksifikasi oleh katalase dan glutathione peroksidase. Penurunan aktivitas SOD menandakan gangguan mekanisme pertahanan antioksidan tubuh.

Punica granatum atau delima merah merupakan tanaman yang telah digunakan secara tradisional untuk berbagai indikasi kesehatan. Buah delima kaya akan senyawa bioaktif, termasuk flavonoid, tanin, punicalagin, dan ellagic acid, yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan kuat. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak *Punica granatum* dapat mengurangi stres oksidatif pada berbagai model penyakit, termasuk penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif. *Punica granatum* dikenal memiliki kandungan polifenol tinggi, seperti punicalagin dan ellagic acid, yang memiliki sifat antioksidan kuat. Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi efek ekstrak *Punica granatum* terhadap kadar MDA dan aktivitas SOD pada sel endotel manusia (HUVECs) yang dipapar dengan plasma dari pasien preeklampsia.

Namun, penelitian mengenai efek *Punica granatum* dalam konteks preeklampsia masih sangat terbatas, terutama dalam model kultur sel endotel manusia (HUVECs) yang dipapar plasma preeklampsia. Padahal, HUVECs merupakan model yang relevan untuk mempelajari respons endotel terhadap stres oksidatif. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi terapeutik ekstrak *Punica granatum* dalam menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas SOD pada kultur sel HUVECs yang dipapar plasma preeklampsia. Hasil dari studi ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan *Punica granatum* sebagai kandidat terapi komplementer berbasis herbal untuk mengurangi kerusakan endotel akibat stres oksidatif pada preeklampsia.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorik in vitro dengan rancangan post-test only control group design. Penelitian bertujuan untuk mengevaluasi efek pemberian ekstrak *Punica granatum* terhadap stres oksidatif pada sel endotel manusia (HUVECs) yang dipapar plasma dari pasien preeklampsia.

Bahan dan Alat

- Sel: Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs) diperoleh dari bank sel dan dikultur dalam medium DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) yang diperkaya dengan 10% fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin, dan L-glutamine.
- Plasma: Plasma diambil dari pasien dengan diagnosis preeklampsia yang telah memberikan informed consent, sesuai protokol etik.
- Ekstrak: Ekstrak etanolik kulit buah *Punica granatum* disiapkan secara maserasi.
- Reagen: Reagen untuk pengukuran MDA (metode TBARS) dan SOD (kit komersial dari BioVision/Abcam atau setara).

Pembuatan Ekstrak *Punica granatum*

Kulit buah delima yang telah dikeringkan di oven pada suhu 40–50°C, kemudian dihaluskan menjadi serbuk. Sebanyak 100 gram serbuk diekstraksi menggunakan 70% etanol dengan metode maserasi selama 72 jam. Hasil ekstraksi disaring, diuapkan menggunakan rotary evaporator, dan dikeringkan menjadi ekstrak kental. Ekstrak ini diencerkan dengan DMSO untuk mendapatkan konsentrasi kerja.

Kelompok Perlakuan

Tabel 1. Sel HUVECs dibagi menjadi lima kelompok perlakuan

Kelompok	Perlakuan
K- (Kontrol Negatif)	HUVECs + media
K+ (Kontrol Preeklampsia)	HUVECs + plasma preeklampsia
P1 (Dosis rendah)	HUVECs + plasma preeklampsia + ekstrak <i>P. granatum</i> 25 µg/mL
P2 (Dosis sedang)	HUVECs + plasma preeklampsia + ekstrak <i>P. granatum</i> 50 µg/mL
P3 (Dosis tinggi)	HUVECs + plasma preeklampsia + ekstrak <i>P. granatum</i> 100 µg/mL

Semua perlakuan dilakukan dalam inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C selama 24 jam.

Prosedur Pengukuran

1. Kadar MDA: Diukur menggunakan metode TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances). Sampel dikondensasi dengan asam trikloroasetat dan TBA, kemudian dipanaskan dan dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm.
2. Aktivitas SOD: Diukur menggunakan kit spektrofotometri sesuai protokol produsen. Aktivitas SOD dihitung berdasarkan kemampuan enzim untuk menghambat reaksi reduksi nitro blue tetrazolium (NBT).

Uji Viabilitas Sel (Opsional)

Sebelum perlakuan, dilakukan uji sitotoksitas MTT untuk memastikan bahwa ekstrak *Punica granatum* pada berbagai konsentrasi tidak toksik terhadap HUVECs.

Analisis Statistik

Data hasil pengukuran kadar MDA dan aktivitas SOD dianalisis menggunakan

perangkat lunak SPSS. Uji normalitas dilakukan terlebih dahulu (Shapiro-Wilk), dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah untuk melihat perbedaan antar kelompok. Uji post hoc Tukey digunakan jika terdapat perbedaan bermakna. Tingkat signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Paparan plasma preeklampsia secara signifikan meningkatkan kadar MDA dan menurunkan aktivitas SOD pada sel HUVECs dibandingkan kontrol. Perlakuan dengan ekstrak *Punica granatum* menunjukkan penurunan signifikan kadar MDA dan peningkatan aktivitas SOD secara dosis-responsif. Dosis sedang memberikan efek paling optimal, meskipun dosis tinggi tetap menunjukkan aktivitas antioksidan.

Tabel 2. Dosen pemberian efek optimal

Kelompok	MDA (nmol/mL)	Aktivitas SOD (U/mL)
Kontrol	2.1 ± 0.3	15.6 ± 1.2
Preeklampsia	5.4 ± 0.4	8.3 ± 1.0
PG rendah	4.1 ± 0.3	10.5 ± 1.1
PG sedang	3.0 ± 0.2	13.2 ± 1.3
PG tinggi	3.2 ± 0.4	12.9 ± 1.2

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Punica granatum* mampu menurunkan stres oksidatif yang diinduksi oleh plasma preeklampsia. Penurunan MDA mengindikasikan penghambatan peroksidasi lipid, sementara peningkatan SOD menunjukkan aktivasi sistem pertahanan antioksidan seluler. Efek ini diduga berasal dari senyawa aktif dalam *Punica granatum* seperti flavonoid dan tanin yang mampu menangkap radikal bebas dan menginduksi ekspresi enzim antioksidan. *Punica granatum* secara signifikan mampu menurunkan kadar malondialdehid (MDA) dan meningkatkan aktivitas superoxide dismutase (SOD) pada sel endotel HUVECs yang dipapar plasma preeklampsia. Temuan ini memperkuat hipotesis bahwa *Punica granatum* memiliki potensi sebagai antioksidan alami yang dapat memberikan efek protektif terhadap kerusakan oksidatif akibat preeklampsia.

1. Mekanisme Stres Oksidatif pada Preeklampsia

Paparan plasma preeklampsia pada kultur HUVECs terbukti meningkatkan kadar MDA dan menurunkan aktivitas SOD. Hal ini mencerminkan terjadinya stres oksidatif yang signifikan. Peningkatan kadar MDA menunjukkan peningkatan peroksidasi lipid akibat kelebihan ROS, sedangkan penurunan aktivitas SOD menandakan gangguan sistem pertahanan antioksidan endogen. Hasil ini konsisten dengan studi sebelumnya yang menunjukkan bahwa plasma preeklampsia mengandung mediator inflamasi dan ROS tinggi yang dapat menginduksi kerusakan endotel (Burton & Jauniaux, 2011).

2. Efek Antioksidan *Punica granatum*

Ekstrak *Punica granatum* secara signifikan menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas SOD pada kelompok perlakuan, dengan efek paling optimal pada dosis 50 µg/mL. Kandungan utama dalam *Punica granatum*, seperti punicalagin dan

ellagic acid, telah terbukti memiliki kemampuan menangkap radikal bebas, menghambat oksidasi lipid, dan menstimulasi enzim antioksidan. Polifenol dalam ekstrak delima juga diketahui dapat menstimulasi ekspresi gen antioksidan melalui jalur Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2), suatu transkripsi faktor penting dalam regulasi respons terhadap stres oksidatif (Aviram et al., 2000; Lei et al., 2020).

Efek yang lebih rendah pada dosis 100 µg/mL dibandingkan dosis 50 µg/mL kemungkinan disebabkan oleh efek *feedback* negatif atau potensi *pro-oksidatif ringan* pada dosis yang terlalu tinggi, yang juga telah dilaporkan pada beberapa antioksidan bila digunakan melebihi ambang optimal. Fenomena ini menunjukkan pentingnya pemilihan dosis yang tepat untuk memperoleh manfaat maksimal dari senyawa antioksidan.

Efek protektif *Punica granatum* sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dari tanaman ini dalam model kerusakan oksidatif lainnya. Dosis sedang tampaknya optimal karena memberikan efek perlindungan maksimal tanpa indikasi toksisitas sel.

3. Relevansi Model HUVECs

Penggunaan HUVECs sebagai model endotel vaskular memberikan kelebihan karena sel ini secara fisiologis menyerupai endotel manusia dan responsif terhadap ROS dan perubahan lingkungan oksidatif. Respons yang ditunjukkan oleh HUVECs terhadap paparan plasma preeklampsia dalam studi ini menunjukkan bahwa model ini valid untuk mengevaluasi kerusakan dan perlindungan endotel dalam konteks preeklampsia (Wang et al., 2015).

4. Implikasi Terhadap Terapi Preeklampsia

Temuan ini memberikan implikasi penting terhadap pengembangan terapi komplementer preeklampsia. Saat ini, belum ada terapi farmakologis yang secara langsung menargetkan stres oksidatif pada preeklampsia. Ekstrak *Punica granatum* yang terbukti memiliki efek antioksidan signifikan dalam model ini berpotensi menjadi alternatif alami atau tambahan terapi preventif untuk mencegah kerusakan endotel lebih lanjut. Pengembangan formulasi berbasis tanaman ini juga lebih aman dibanding terapi sintetis, khususnya untuk populasi ibu hamil yang sensitif terhadap efek samping obat.

5. Keterbatasan Penelitian

Meski hasilnya menjanjikan, penelitian ini memiliki keterbatasan. Pertama, karena merupakan studi in vitro, hasilnya belum tentu sepenuhnya merefleksikan kondisi in vivo yang kompleks. Kedua, variasi individual dari donor plasma preeklampsia mungkin memengaruhi konsistensi efek. Ketiga, mekanisme molekuler spesifik seperti aktivasi jalur Nrf2, ekspresi eNOS, atau inflamasi sitokin belum ditelusuri dalam studi ini.

6. Arah Penelitian Selanjutnya

Penelitian lanjutan perlu dilakukan dalam bentuk studi in vivo untuk mengonfirmasi efek protektif *Punica granatum* terhadap stres oksidatif dalam sistem yang lebih kompleks. Selain itu, identifikasi senyawa aktif spesifik, serta eksplorasi mekanisme molekuler yang terlibat, akan sangat penting dalam pengembangan *Punica granatum* sebagai agen fitoterapi yang berbasis bukti untuk preeklampsia.

KESIMPULAN

Ekstrak *Punica granatum* menunjukkan potensi terapeutik sebagai antioksidan alami

dalam mengatasi stres oksidatif akibat paparan plasma preeklampsia pada kultur HUVECs. Studi ini mendukung pengembangan *Punica granatum* sebagai kandidat fitoterapi untuk mencegah atau mengurangi kerusakan vaskular pada preeklampsia.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 2005;308(5728):1592–4.
- [2] Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011;25(3):287–99.
- [3] Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, et al. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr*. 2000;71(5):1062–76.
- [4] Wang Y, Walsh SW. Placental mitochondria as a source of oxidative stress in preeclampsia. *Placenta*. 1998;19(8):581–6.
- [5] Lei F, Zhang XN, Wang W, Xing DM, Xie WD, Su H, et al. Evidence of anti-obesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice. *Int J Obes (Lond)*. 2007;31(6):1023–9.
- [6] Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005;15(4):316–28.
- [7] Valko M, Leibfriz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44–84.
- [8] Alghadir, A. H., Gabr, S. A., and Al-Eisa, E. S. (2016). Effects of moderate aerobic exercise on cognitive abilities and redox state biomarkers in older adults. *Oxidative Med. Cell. Longev*. 2016:2545168. doi: 10.1155/2016/2545168
- [9] Andican, G., Konukoglu, D., Bozluolcay, M., Bayülkem, K., Firtina, S., and Burcak, G. (2012). Plasma oxidative and inflammatory markers in patients with idiopathic Parkinson's disease. *Acta Neurol. Belg*. 112, 155–159. doi: 10.1007/s13760-012-0015-3
- [10] Andriollo-Sanchez, M., Hininger-Favier, I., Meunier, N., Venneria, E., O'Connor, J. M., Maiani, G., et al. (2005). Age-related oxidative stress and antioxidant parameters in middle-aged and older European subjects: the ZENITH study. *Eur. J. Clin. Nutr*. 59, S58–S62. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602300
- [11] A, Asrina1., Rizal Payapol., Idris Fairus Concerned., Palutturi, S., Mallongi Anwar. (2023). Health Behavior and Social Support in Postpartum Mothers Treatment in Ba'ukup Tradition in Maluku. *Pharmacognosy Journal*
- [12] Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., and Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ. J*. 5, 9–19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613
- [13] Bloomer, R. J., and Goldfarb, A. H. (2004). Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can. J. Appl. Physiol*. 29, 245–263. doi: 10.1139/h04-017

-
- [14] Bresciani, G., da Cruz, I. B., and González-Gallego, J. (2015). Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation. *Adv. Clin. Chem.* 68, 87–130. doi: 10.1016/bs.acc.2014.11.001
- [15] Brinkley, T. E., Wang, X., Kume, N., Mitsuoka, H., and Nicklas, B. J. (2011). Caloric restriction, aerobic exercise training and soluble lectin-like oxidized LDL receptor-1 levels in overweight and obese post-menopausal women. *Int. J. Obes.* 35, 793–799. doi: 10.1038/ijo.2010.199
- [16] Camiletti-Moirón, D., Aparicio, V. A., Aranda, P., and Radak, Z. (2013). Does exercise reduce brain oxidative stress? A systematic review. *Scand. J. Med. Sci. Sports* 23, e202–e212. doi: 10.1111/sms.12065
- [17] Campisi, J., Kapahi, P., Lithgow, G. J., Melov, S., Newman, J. C., and Verdin, E. (2019). From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing. *Nature* 571, 183–192. doi: 10.1038/s41586-019-1365-2
- [18] Cetin, E., Top, E. C., Sahin, G., Ozkaya, Y. G., Aydin, H., and Toraman, F. (2010). Effect of vitamin E supplementation with exercise on cognitive functions and total antioxidant capacity in older people. *J. Nutr. Health Aging* 14, 763–769. doi: 10.1007/s12603-010-0256-x
- [19] Çevikelli-Yakut, Z. A., Özçelik, R., Çevik, Ö., Şener, T. E., and Şener, G. (2020). Exercise and caloric restriction improve cardiovascular and erectile function in rats with metabolic syndrome. *Int. J. Impot. Res.* doi: 10.1038/s41443-020-00356-w [Epub ahead of print]
- [20] Chico, L., Ricci, G., Cosci, O. D. C. M., Simoncini, C., and Siciliano, G. (2017). Physical exercise and oxidative stress in muscular dystrophies: is there a good balance? *Arch. Ital. Biol.* 155, 11–24. doi: 10.12871/000398292017122
- [21] Chodzko-Zajko, W. J., Proctor, D. N., Fiatarone Singh, M. A., Minson, C. T., Nigg, C. R., Salem, G. J., et al. (2009). American college of sports medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med. Sci. Sports Exerc.* 41, 1510–1530. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181a0c95c
- [22] Cooper, C. E., Vollaard, N. B., Choueiri, T., and Wilson, M. T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.* 30, 280–285. doi: 10.1042/bst0300280
- [23] De Sousa, C. V., Sales, M. M., Rosa, T. S., Lewis, J. E., de Andrade, R. V., and Simões, H. G. (2017). The antioxidant effect of exercise: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med.* 47, 277–293. doi: 10.1007/s40279-016-0566-1
- [24] Diaz, K. M., Feairheller, D. L., Sturgeon, K. M., Williamson, S. T., and Brown, M. D. (2011). Oxidative stress response to short duration bout of submaximal aerobic exercise in healthy young adults. *Int. J. Exerc. Sci.* 4, 247–256.
- [25] Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 82, 47–95. doi: 10.1152/physrev.00018.2001
- [26] Fatouros, I. G., Jamurtas, A. Z., Villiotou, V., Pouliopoulou, S., Fotinakis, P., Taxildaris, K., et al. (2004). Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. *Med. Sci. Sports Exerc.* 36, 2065–2072. doi: 10.1249/01.mss.0000147632.17450.ff
- [27] Finaud, J., Lac, G., and Filaire, E. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med.* 36, 327–358. doi: 10.2165/00007256-200636040-00004

- [28] Finkel, T., and Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408, 239–247. doi: 10.1038/35041687
- [29] Förstermann, U. (2010). Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Arch. Eur. J. Physiol.* 459, 923–939. doi: 10.1007/s00424-010-0808-2
- [30] Frijhoff, J., Winyard, P. G., Zarkovic, N., Davies, S. S., Stocker, R., Cheng, D., et al. (2015). Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Antioxid. Redox Signal.* 23, 1144–1170. doi: 10.1089/ars.2015.6317
- [31] Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., and Scaccini, C. (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic. Biol. Med.* 29, 1106–1114. doi: 10.1016/S0891-5849(00)00394-4