

Chlorpyrifos-ethyl'in rat plazmasında in vivo lipoperoksidatif etkisi ile melatonin ve vitamin C +vitamin E'nin koruyucu etkilerinin araştırılması*

İbrahim Kılınc*, İrfan Altuntaş*, Mahiye Kaptanağası*,
Duygu Kumbul Doğuç *, Hakan Mollaoğlu**, Süleyman Kaleli***

* Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya AD, Isparta
** Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, Isparta
*** Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta Sağlık Yüksek Okulu, Isparta

Özet

Chlorpyrifos-ethyl'e (CE) maruz kalan ratların plazmalarında melatonin ile vitamin C ve vitamin E kombinasyonunun koruyucu etkileri araştırıldı. Deney grupları şu şekilde organize edildi: Kontrol grubu (C), CE verilen grup (CE), vitamin E + vitamin C verilen grup (Vit), melatonin verilen grup (Mel), vitamin E + vitamin E + CE verilen grup (Vit+CE) ve melatonin + CE verilen grup (Mel+CE). İlgili gruplara altı gün vitaminler ve melatonin verilirken beşinci ve altıncı gün CE verildi. Uygun teknikle biyokimyasal çalışmalar için kan örnekleri alındı. Plazmada Tiobarbitürik Asitle Reaksiyon Veren Substratlar (TBARS) ve Antioksidan Potansiyel (AOP) düzeyleri ölçüldü. TBARS CE grubunda kontrol grubuna göre yüksek iken, CE grubu ile karşılaştırıldığında Mel+CE ve Vit+CE gruplarında anlamlı olarak düşük bulundu. AOP ise TBARS'ın tersine kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CE grubunda düşük bulunurken, CE grubu ile karşılaştırıldığında Mel+CE ve Vit+CE gruplarında anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$). Sonuçta, CE'nin rat plazmasında oksidatif stresi artırarak suretiyle lipid peroksidasyonunu artırdığı ve AOP'yi düşürdüğü, melatoninin ile vitamin C + vitamin E kombinasyonunun CE'nin bu lipoperoksidatif etkisini düşürebileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: chlorpyrifos-ethyl, plazma, lipid peroksidasyonu, melatonin, vitamin E, vitamin C

Abstract

Investigation of the in vivo lipoperoxidative effect of chlorpyrifos-ethyl in plasma of rats and ameliorating effects of melatonin and the combination of vitamin C + vitamin E on this effect

The lipoperoxidative effect of chlorpyrifos-ethyl (CE) and ameliorating effect of melatonin and the combination of vitamin C + vitamin E in plasma of CE exposed rats were investigated.

The experimental groups were as follows: Control, CE treated group (CE), vitamin E + vitamin C treated group (Vit), melatonin treated group (Mel), vitamin E + vitamin C + CE treated group (Vit+CE), and melatonin + CE treated group (Mel+CE). While vitamins and melatonin were administered 6 consecutive days, CE was administered only 5th and 6th days to the appropriate groups. The blood samples were taken by appropriate techniques for biochemical examinations. The levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), and antioxidant potential (AOP) were determined in plasma. TBARS was found to be increased in CE Group compared to Control Group, whereas it was found to be decreased in Vit+CE Group and Mel+CE Group compared to CE Group ($p<0.05$). Conversely, AOP was found to be decreased in CE Group compared to Control Group, whereas it was found to be increased in Vit+CE Group and Mel+CE Group compared to CE Group ($p<0.05$). These results suggested that treating CE increases lipid peroxidation and decreases AOP by increasing oxidative stress in plasma of rats, and melatonin and the combination of vitamin C + vitamin E can reduce this lipoperoxidative effect of CE.

Key words: Chlorpyrifos-ethyl, plasma, lipid peroxidation, melatonin, vitamin E, vitamin C

* "The 8th Meeting of the Balkan Clinical Laboratory Federation"de (Romanya, 2000) poster olarak sunulmuştur.

Giriş

Chlorpyrifos-ethyl (CE) (0,0'-diethyl 0-[3,5,6-trichloro-2-pyridyl] phosphorothionate), bahçe, tarım ve orman zararlılarına karşı yaygın olarak kullanılan bir organofosfat insektisittir ve bundan dolayı insanlar için maruz kalma potansiyeli oldukça yüksektir (1). CE toksikolojisi ile ilgili yapılan çalışmalarda, temel toksisite mekanizmasının sinir kavşaklarında asetilkolin esteraz inhibisyonu olduğu gösterilmiştir

(2-4).

Pestisitlerin farklı sınıflarının reaktif oksijen türlerinin üretimini artırdığı ve bu ksenobiyotiklerin toksik belirtilerini veren oksidatif doku hasarı oluşturduğu pekçok raporda belirtilmiştir (5,6). Reaktif oksijen türleri, pek çok toksik madde ve patolojik şartlara yanıt olarak oluşan programlı hücre ölümünde genel bir aracı olarak görev yapabilirler (7).

Malondialdehit (veya tiobarbitürik asitreaktif substans (TBARS)), reaktif oksijen türlerinin (ROS) hücrel membranlarla etkileşiminden kaynaklanan membran lipid peroksidasyonunun bir belirteçidir. ROS'un neden olduğu membran lipid peroksidasyonu membran karakteristiklerinin değişimiyle hücrel homeostazis bozulmasına yol açabilir (6). ROS düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar, "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar, bir yaklaşıma göre enzim ve enzim olmayanlar şeklinde sınıflandırılabilirler (7,8). Enzimatik antioksidanların başlıcalarına örnek olarak süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) verilebilir. Vitamin C, vitamin E ve melatonin ise enzimatik olmayan antioksidanlardan bazılarıdır. CE'nin in vitro olarak lipid peroksidasyonunu artırdığı ve antioksidan enzim aktivitelerinde anlamlı olarak değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (9).

Bu araştırma, ziraatte sıklıkla kullanılan ve birçok toksisiteye neden olabilen chlorpyrifos-etyl'in sıçanlarda oksidatif hasara neden olup olmadığını araştırmak ve antioksidanlardan melatonin ile vitamin E + vitamin C kombinasyonunun koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla planlanmıştır.

Materyal ve Metod

Deney hayvanları : Bu çalışmada ağırlıkları 190-240 gram arasında değişen, erkek Wistar albino cinsi ratlar kullanılmıştır (n = 30). Deney süresince hayvanlara yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) verildi. Sıçanlar altı eşit gruba ayrıldı: Kontrol grubu, CE verilen grup (CE), vitamin E + vitamin C verilen grup (Vit), melatonin verilen grup (Mel), vitamin E + vitamin E + CE verilen grup (Vit+CE) ve melatonin + CE verilen grup (Mel+CE). E vitamini (? - tocopherol acetate; Vitamin E; SIGMA) ve C vitamini (askorbik asit; Vitamin C; Redoksan amp, ROCHE) kombinasyonu günde bir kez altı gün boyunca sırasıyla 150 mg/kg and 200 mg/kg dozlarında intramusküler olarak Vit ve Vit+CE gruplarına uygulandı. Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine; SIGMA) %5'lik etil alkol içinde çözülerek aynı periyod ve şekilde 10 mg/kg dozda Mel ve Mel+CE gruplarına uygulandı. Chlorpyrifos-ethyl (Chlorpyrifos-ethyl; Dursban 25; Dow Agrosience) CE, Vit+CE ve Mel+CE gruplarına beşinci günün sonunda 0. ve 21. saatte 8 numara feeding tüp yardımıyla 41 mg/kg dozunda (0,25 LD50) intragas-

trik yoldan verildi. Vit+CE ve Mel+CE gruplarına CE uygulanırken Vit ve Mel gruplarına da eşit hacimde serum fizyolojik uygulandı. C ve CE gruplarına da deney süresince i.m. serum fizyolojik uygulandı. Deney, CE uygulamasının 24. saatinde sonlandırıldı. Deney süresinin sonunda (6.gün), dekapitasyonu takiben heparinli tüplere kanlar alınarak plazmaları ayrıldı. Plazmalardan TBARS ve AOP düzeyleri çalışıldı.

TBARS ölçümü: TBARS için Draper ve Hadley' in çift ısıtma yöntemi kullanıldı (10). Metodun prensibi MDA-TBA (Tiobarbitürik asit) kompleksinin 532 nm'de verdikleri absorbansın ölçülmesi esasına dayanır.

AOP ölçümü : Durak ve ark.'nın (11) yöntemine göre AOP belirlendi. Bu yöntemde, reaksiyon ortamı ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikallerine (O₂·-) bir saat süreyle maruz bırakılır. Reaksiyon ortamındaki TBARS konsantrasyonu, O₂·- radikal oluşmadan önce ve oluşturulduktan sonra ölçülür. İki değer arasındaki fark antioksidan potansiyele ters orantılıdır.

İstatistik: Genel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı Kruskal- Wallis varyans analizi testi ile yapıldı. Grupların ikişerli karşılaştırılması ise Mann - Whitney U testi ile kullanıldı. Anlamlılık düzeyi 0.05 olarak kabul edildi. İstatistikler "SPSS 10.0 for Windows" paket programında yapıldı.

Bulgular

Sonuçlar topluca Tablo 1 ve Şekil 1-2 de verilmiştir. Tablo 1'de görüldüğü gibi CE uygulaması kontrol grubuna göre TBARS'ta artışa neden olmuş (p<0.05), yine kontrol grubuna göre vitamin C + vitamin E ile melatonin uygulaması TBARS'ta azalmaya neden olmuştur (p<0.05). Ayrıca vitamin E + vitamin C ile melatonin uygulaması CE'nin neden olduğu TBARS artışını anlamlı olarak düşürmüştür (p<0.05).

CE uygulaması TBARS'in tersine AOP'de düşmeye neden olurken (p<0.05), antioksidanların uygulanması CE'nin neden olduğu düşmeyi anlamlı derecede ortadan kaldırmıştır (p<0.05).

Tartışma

Organofosfatların asetilkolin esteraz inhibisyonu ile etki etmelerinin yanısıra, son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar göstermiştir ki, bazı organofosfat insektisitler reaktif oksijen türlerinin üretimini artırmaktadır ve böylece oksidatif doku hasarlarına neden olmaktadır (5-7, 12-14).

Birkaç organofosfat insektisitinin, kemirici karaciğer ve beyin dokularının hücrel komponentlerinde (7,14), fetal insan beyin ve karaciğer dokularında (15), insan eritrosit ve plazmasında (16), ve çeşitli amfipod ve

Tablo 1 : Çalışma gruplarının enzim aktiviteleri.

	TBARS (nmol/mgprot)	AOP (1/nmol/ml.h)
Kontrol Grubu	3.520 ± 0.312	0.225 ± 0.100
CE Grubu	6.615 ± 0.731	0.020 ± 0.007
Vit C + Vit E Grubu	3.011 ± 0.300	0.257 ± 0.232
Melatonin Grubu	2.802 ± 0.162	0.310 ± 0.093
Vit C +Vit E +CE Grubu	4.087 ± 0.500	0.079 ± 0.014
Melatonin + CE grubu	3.932 ± 0.751	0.053 ± 0.020
	TBARS	AOP
Kruskal-Wallis	*	*
	I / II-III-IV-V	I / II-V-VI
	II / I-III-IV-V-VI	II / I-III-IV-V-VI
Kruskal-Wallis		
Karşılaştırıldıklarında anlamlı olan Gruplar. (Mann-Whitney U, p<0.05)	III / I-II-V-VI	III / II-V-VI
	IV / I-II-V-VI	IV / II-V-VI
	V / I-II-III-IV	V / I-II-III-IV
	VI / II-III-IV	VI / I-II-III-IV

*: p<0.001

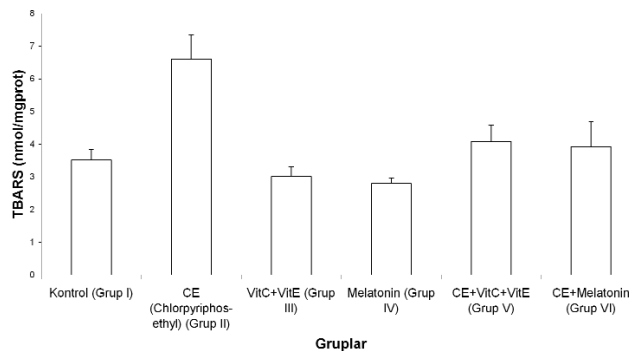
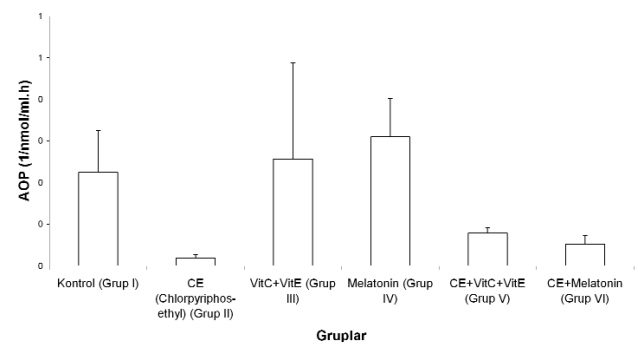
balık türlerinin doku homojenatlarında (13) neden olduğu oksidatif hasar araştırılmıştır. Bu çalışmaların tümünde, reaktif oksijen türlerinin hücresel membranlarla etkileşiminden kaynaklanan membran lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan malondi-aldehit (veya TBARS) artmıştır (7,13,14).

Çalışmamızda da, iki doz (41 mg/kg ; LD50'nin % 25'i) chlorpyrifos uygulamasını takiben rat plazmasında TBARS düzeyi artmıştı. Bu artış, chlorpyrifos veya metabolitlerinin neden olduğu ROS artışına bağlı olabileceği gibi, chlorpyrifosun neden olduğu antioksidan enzim aktivitelerinde azalma ve bunun sonucunda AOP'in azalması, dolayısıyla ROS'un ortamdaki yeterince uzaklaştırılmayışına da bağlı olabilir.

AOP vücuttaki endojen antioksidan enzimlerin aktiviteleri ile enzimatik olmayan antioksidanların düzeylerini yansıtır. Tek tek antioksidan enzim veya enzim olmayan antioksidan madde düzeylerine göre vücudun antioksidan sistemi hakkında daha gerçekçi bilgi verir. Bazı antioksidanların düzeyi değişmezken bazılarının artması AOP'i artırabilir. Bu açıdan AOP

ölçümü önem kazanmaktadır. Antioksidan savunma potansiyelini oluşturan temel enzimatik antioksidanların aktivitelerinin, in vitro ve in vivo pestisit ve insektisitlerin etkileriyle değiştiği gösterilmiştir (15-17,18). Bu konuda farklı çalışma sonuçları rapor edilmiştir. Bir organofosfat insektisit olan malathion'un in vitro şartlarda insan fetuslarından elde edilen karaciğer ve beyin doku homojenatlarına etkileri araştırılmış; her iki dokuda SOD ve CAT aktivitelerinde önemli inhibisyonla beraber MDA oluşumunda artış olduğu saptanmıştır (15). Aynı çalışmada, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ile ilgili olarak bilinen GSH-Px aktivitesi ise, düşük konsantrasyonlardaki malathion muamelesi ile artarken, yüksek konsantrasyonlarda değişmeden kaldığı gösterilmiştir. Bu da, düşük konsantrasyonlardaki toksik ajanın dokuda oluşturduğu oksidatif hasara karşı GSH-Px artmış aktivitesi ile bir adaptasyon gösterirken, yüksek konsantrasyonlardaki maruz kalmaya adaptasyon mekanizmasının gözlenmediği şeklinde yorumlanmıştır.

Bir başka çalışmada organofosfat pestisit olan

**Şekil 1** : Grupların plazma TBARS (Tiobarbitürik asitle reaksiyona giren substratlar) düzeyleri.**Şekil 2** : Grupların plazma AOP (Antioksidan potansiyel) düzeyleri.

quinalphos'un (LD50 dozunda) sıçan beyin ve karaciğer dokularında antioksidan savunma sistemi üzerindeki etkisi araştırılmıştır (17). Bu çalışmanın sonuçlarına göre; karaciğer ve beyin dokuları in vivo quinalphos muamelesine farklı yanıtlar vermiştir. SOD, CAT ve GSH- Px aktiviteleri karaciğerde artarken, beyin dokusunda yalnızca CAT aktivitesi artmıştır. Bu farklı bulgular neticesinde organofosfatın beyin ve karaciğer dokusunda farklı metabolik yollar izlediği kanısına varılmıştır.

Prasanta ve Anand (18) organofosfat dimethoata'nın fare hepatik lipid peroksidasyonu ve SOD ve CAT'ı içeren antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığını rapor etmişlerdir. Datta ve ark. (16) ise, insan eritrosit ve plazma antioksidan savunma komponentleri üzerine phosphamidon (organofosfat) 'un etkisini araştırmışlar, eritrositte GSH-Px, SOD ve CAT aktiviteleri stimüle olurken plazma fraksiyonunda, GSH-Px ve SOD aktivitelerinin önemli derecede deprese olduğunu, öte yandan MDA düzeyinin ve CAT aktivitesinin arttığını göstermişlerdir. Sonuçta, plazmanın oksidatif hasardan korunmak için düşük adaptasyon gösterdiği düşünülmüştür.

Çalışmamızda, her ne kadar antioksidan enzimler çalışılmadıysa da, antioksidanların tümünün düzeyini yansıtabilecek olan AOP çalışılmıştır. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivite ve düzeylerindeki azalmalardan dolayı AOP azaltılmakta ve sonuçta lipid peroksidasyonunda bir artış görülebilmektedir. Nitekim bu çalışmada da AOP azalırken TBARS artmıştır. Buradan CE'nin enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidanları etkileyerek AOP'ı düşürdüğü ve dolayısıyla lipid peroksidasyonunu artırdığı düşünülebilir.

Bu çalışmada CE'nin neden olduğu oksidatif hasarı engellemek amacıyla antioksidanlar kullanıldı. Bunlardan vitamin C güçlü indirgeyici aktivitesi nedeniyle aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girer. C vitamini ayrıca antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller, tokoferoksil radikalinin, α -tokoferole redüklenmesini sağlar (19,20). Vitamin E ise çok önemli bir antioksidan olup, lipid peroksidasyonunun erken aşamalarında biomembranlardaki serbest radikal toplayıcı aktivitesi sonucu hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyarak, lipid peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E, süperoksit, hidroksil radikalleri, tekli (singlet) oksijen, lipid peroksil radikalleri ve diğer radikal örneklerini indirger (21,22). C vitamini ve E vitamini kombinasyonu uygulamalarının çeşitli oksidanların neden olduğu oksidatif hasara karşı koruyucu olduğuna ilişkin

birçok rapor mevcuttur (23,24). Bizim çalışmamızda da vitamin kombinasyonu uygulanması TBARS'ı kontrol grubuna göre Vit grubunda ve CE grubuna göre Vit+CE gruplarında anlamlı olarak düşürmüştür ($p<0.05$).

Kullandığımız diğer antioksidan olan melatonin de çok güçlü bir antioksidandır. Özellikle en zararlı serbest radikal olan "hidroksil radikali" (OH.) ile reaksiyona girerek, onu indolil katyonuna dönüştürmek suretiyle ortadan kaldırır (25). Yüksek derecede toksik bir ksenobiyotik olan paraquat'ın sıçan akciğer dokusunda (26), bakteriel lipopolisakkarit ile muamele edilmiş sıçanların birçok dokusunda (27), karbontetraklorür hepatotoksitesinde (28) ve kainik asidin rat beyin, beyincik, hippokampus ve hipotalamusunda (29) neden olduğu peroksidatif hasarın bir göstergesi olan artmış TBARS düzeyleri üzerine melatoninin azaltıcı etkileri gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da CE grubuna göre Mel+CE grubunda ve kontrol grubuna göre Mel grubunda TBARS anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.05$). Çalışmamızda CE'nin neden olduğu TBARS artışının vitamin kombinasyonu veya melatonin ilavesiyle anlamlı olarak düşmüş olması CE'nin neden olduğu lipid peroksidasyonunu azaltmada antioksidanların efektif olarak kullanılabilceğini düşündürmektedir.

Bu bulgulardan hareketle, CE'nin ratlarda oksidatif strese neden olduğu, bu oksidatif stresin CE toksitesinde rol oynayabileceği ve melatoninin ile vitamin E + vitamin C kombinasyonunun CE nin toksik etkilerini anlamlı olarak azaltabileceği kanaatine varıldı.

Kaynaklar

1. Hunter DL, Lassiter TL, Padilla S. Gestational exposure to chlorpyrifos: comparative distribution of trichloropyridinol in the fetus and dam. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 158(1): 16-23.
2. Li WF, Furlong CE, Costa LG. Paraoxonase protects against chlorpyrifos toxicity in mice. *Toxicol Lett* 1995; 76(3): 219-26.
3. Chanda SM, Mortensen SR, Moser VC, Padilla S. Tissue-specific effects of chlorpyrifos on carboxylesterase and cholinesterase activity in adult rats : an in vitro and in vivo comparison. *Fundam Appl Toxicol* 1997; 38(2): 148-57.
4. Bigbee JW, Sharma KV, Gupta JJ, Dupree JL. Morfogenik role for acetylcholinesterase in axonal outgrowth during neural development. *Environ Health Perspect* 1999; 1: 81-7.
5. Agrawal D, Sultana P, Gupta G.S.D. Oxidative damage and changes in the glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane *Food Chem Toxicol* 1991; 29(7): 459-62.
6. Stephen B, Kyle L, Yong X, Cynthia A, Donald E, Earl F, James E. Role of oxidative stress in the mechanism of

- dieldrin's hepatotoxicity. *Ann Clin Lab Sci* 1997; 27(3): 196-208.
7. Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, Stohs SJ. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology* 1995; 104(1-3): 129-40.
8. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49(3): 479-80.
9. Gultekin F, Ozturk M, Akdogan M. (2000) The effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Archives of Toxicology*, 74: 533-538.
10. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186:421-31.
11. Durak I, Karabacak HI, Büyükkocak S, Çimen MYB, Kaçmaz M, Ömeroğlu E, Öztürk HS. Impaired antioxidant defence system in the kidney tissues from rabbits treated with cyclosporine. *Nephron* 1998; 78:207-11.
12. Klaunig JE, Xu Y, Isenberg JS, Bachowski S, Kolaja KL, Jiang J. The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 1998; 1:289 -95.
13. Steevens JA, Benson WH. Toxicological interactions of chlorpyrifos and methyl mercury in the amphipod, *Hyalella azteca*. *Toxicol Sci* 1999; 52(2): 168-77.
14. Lodowici M, Aioli S, Monserrat C, Dolara P, Medica A, Symlicio P. Effect of a mixture of 15 commonly used pesticides on DNA levels of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and xenobiotic metabolizing enzymes in rat liver. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1994; 13(3): 163-8.
15. Jayati Gupta, Chhabi Datta. Effect of malathion on antioxidant defence system in human fetus-An in vitro study. *Ind J Exp Biol* 1992; 35:2-4.
16. Datta C, Gupta J, Sarkar A, Sengupta D. Effects of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma. *Ind J Exp Biol* 1992; 30: 65-7.
17. Dwivedi PD, Mukul D, Khanna SK. Role of cytochrome p-450 in quinalphos toxicity : Effect on hepatic and brain antioksidant enzymes in rats. *Food Chem Toxicol* 1998; 36: 437-44.
18. Prasanta KM, Anand K. Dimethoate inhibits extrathyroidal 5' - monodeiodination of thyroxine to 3,3', 5- triiodothyronine in mice : the possible involvement of the lipid peroxidative process. *Toxicol Lett* 1997; 91: 1-6.
19. Lunec J, Blake D, Oxygen Free Radicals : Their relevance to disease processes . In: Cohen RD, Lewis B, Albert KGMM. *The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease*. Balliere Tindall, London, 1990; 189-212.
20. Jialal I, Fuller CJ. Oxidized LDL and antioxidants . *Clin Cardiol* 1993; 16: 1-9.
21. Mayes PA. Structure and Function of the Water-soluble Vitamins. In : Murray RK, Granner DK, Mayes PA - Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. 23. ed. Lange medical publication, London, 1993; 573-87.
22. Gey KF. Prospects for the prevention of free radical disease, regarding cancer and cardiovascular disease . *Br Med Bull* 1993; 49(3): 679-99.
23. Biri H, Ozturk HS, Buyukkocak S, Kacmaz M, Cimen MY, Unal D, Birey M, Bozkirli I, Durak I. Antioxidant defense potential of rabbit renal tissues after ESWL: protective effects of antioxidant vitamins. *Nephron* 1998; 79(2): 181-5.
24. Campisi A, Di Giacomo C, Russo A, Sorrenti V, Vanella G, Acquaviva R, Li Volti G, Vanella A. Antioxidant systems in rat lens as a function of age: effect of chronic administration of vitamin E and ascorbate. *Aging (Milano)* 1999; 11(1): 39-43.
25. Ozguner F, Kerman M, Delibas N, Gultekin F. The relationship of age related decrease in melatonin with oxidative damage and mental status. *Biomed Res* 2000; 11(1): 61-5.
26. Melchiorri D, Reiter RJ, Attia AM, Hara M, Burgos A, Nistico G. Potent protective effect of melatonin on in vivo paraquat-induced oxidative damage in rats. *Life Sci* 1994; 56: 83-9.
27. Severynek E, Melchiorri D, Reiter RJ, Ortiz GG, Lewinski A. Lipopolysaccharide- induced hepatotoxicity is inhibited by the antioxidant melatonin. *Eur J Pharmacol* 1995; 293: 327-34.
28. Daniels WMV, Reiter RJ, Melchiorri D, Severynek E, Pablos MI, Ortiz GG. Melatonin counteracts lipid peroxidation induced by carbon tetrachloride but does not restore glucose-6-phosphatase activity. *J Pineal Res* 1995; 19: 1-6.
29. Melchiorri D, Reiter RJ, Severynek E, Chen LD, Nistico G. Melatonin reduces kainate-induced lipid peroxidation in homogenates of different brain regions. *FASEB J* 1995; 9: 1205-10.

Yazışma Adresi

Dr. İbrahim Kılınc
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya ve Klinik Biyokimya AD, Isparta

Tel: 0 246 237 1727
Fax: 0 246 237 17 62

E-mail: ikilinc28@hotmail.com