

## Bleomycin Uygulanan Ratlarda CoQ<sub>10</sub>' in Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Profil ve Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkisi \*

F. Çağlar ÇELİKEZEN Ali ERTEKİN

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD, Van, Türkiye

Geliş tarihi: 11.03.2009

Kabul Tarihi: 26.03.2009

### ÖZET

Bu çalışmada bleomisin uygulanan ratlarda, CoQ<sub>10</sub>' in lipit peroksidasyonu, antioksidan profil ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi araştırıldı. Çalışmayı altı ve dokuz aylık 60 Wistar-Albino ırkı rat oluşturdu. Altı ve dokuz aylık ratlar üç gruba ayrıldılar. Birinci grup ratlara bleomisin 7,5 mg/kg/canlı ağırlık oranında intratrekeal olarak tek doz şeklinde uygulandı. İkinci grup ratlara bleomisine ilave olarak CoQ<sub>10</sub> 4 mg/kg/ canlı ağırlık oranında intraperitoneal olarak hergün uygulandı. Üçüncü grup ratlara ise yalnız CoQ<sub>10</sub> 4 mg/kg/ canlı ağırlık oranında yine günlük olarak verildi. Çalışma süresi altı hafta olarak planlandı. Deneme öncesi ratlardan alınan kanlar kontrol grubu oluşturmak amacıyla kullanıldı. Uygulamanın üçüncü ve altıncı haftalarında kan örnekleri ve histopatoloji için doku örnekleri alındı. Yapılan analizlerde MDA düzeylerinde bleomisin verilen grupta önemli seviyelerde artışlar gözlemlendi. Diğer deneme gruplarında ölçülen yükselmeler, bleomisin verilen gruptan daha az olarak şekillendi. Glutasyon seviyelerinde kontrol değerlerine göre tüm gruplarda değişik anlamlarda azalmalar saptandı. Seruloplazmin değerlerinde ise tüm gruplarda deneme sonunda ciddi artışlar hesaplandı. Retinol miktarlarında CoQ<sub>10</sub> verilen grup hariç diğer gruplarda çalışma sonunda artışlar gözlenirken α-tokoferol düzeyinde azalmalar saptandı. Histopatolojik bulgularda ise, bleomisin verilen grupta alveoller arası septumlarda belirgin kalınlaşmalar ve fibrozis şekillendi. Bleomisin ve CoQ<sub>10</sub> verilen grupta gözlenen bu septum kalınlaşmaları daha az belirgindi. CoQ<sub>10</sub> verilen grupta ise amfizem ve hiperemiye bağlı daha hafif kalınlaşmalar gözlemlendi. Sonuç olarak, CoQ<sub>10</sub>' in bleomisin ile birlikte verildiği grupta fibrotik görünümünün, bleomisin verilen gruba göre daha az şekillenmiş olması CoQ<sub>10</sub>' in antioksidan ve koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir. Bu koruyucu etkisi, akciğerlerde fibroblastların ve lökositlerin birikmelerinin inhibe edilmesi veya serbest oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ya da ortamdan uzaklaştırılması ile açıklanabilir.

### Anahtar Kelimeler

Antioksidanlar, Antioksidan vitaminler, Bleomisin, CoQ<sub>10</sub>, Lipit peroksidasyonu, Rat

## The Effect of the CoQ<sub>10</sub> on the Lipid Peroxidation, Antioxidant Profile and Some Biochemical Parameters in Rats Induced With Bleomycin

### SUMMARY

In this dissertation, the effect of CoQ<sub>10</sub> in lipid peroxidation, antioxidant profile and some biochemical parameters were examined on the bleomycin exposed rats. 60 Wistar-Albino race rats in six and nine-month age were examined. Six and nine-month age rats were divided into three groups. In the first group, bleomycin were applied intratracheally as one dose with the ratio of 7,5 mg/kg/body weight. In the second group rats, in addition to the bleomycin, CoQ<sub>10</sub> was intraperitoneally applied daily with the ratio of 4mg/kg/body weight. In the third group rats, only CoQ<sub>10</sub> was applied daily with the ratio of 4mg/kg/ body weight. The study period was planned as six weeks. The blood taken from the rats before experiments was used for establishing the control group. The blood samples and tissue samples for histopathology were taken in the third and the sixth weeks. The MDA levels were observed importantly high in the bleomycin applied group. The observed high values in the other groups were formed as lower than the bleomycin applied group. Glutathione level decrease with different meanings in all groups was observed when compared to control levels. But important serulplasmin value increases were calculated in all groups at the end of the experiment. While the retinol level increase was observed in all groups except CoQ<sub>10</sub> implemented group, it was determined that there was a decrease in α-tokoferol level. In the histopathologic symptoms, a clear thickening and fibrosis were formed in septums between alveolus in the bleomycin applied group. The observed septum thickening was less clear in the bleomycin + CoQ<sub>10</sub> applied group. But the amfizems in the CoQ<sub>10</sub> applied group slightly thickened because of the hyperemia. As a result, the less fibrotic formation in the CoQ<sub>10</sub> and bleomycin applied group than the only bleomycin applied group shows that CoQ<sub>10</sub> is an antioxidant and has a protective effect. This protective effect can be explained as the inhibition of fibroblasts in lungs and leucocyte accumulation or obstructing the free oxygen radicals formation or removal from the environment.

### Key Words

Antioxidants, Antioxidant vitamins, CoQ<sub>10</sub>, Bleomycin, Lipid peroxidation, Rat

### GİRİŞ

CoQ<sub>10</sub> insan vücudunda doğal olarak üretilir ve miktarı

kendi sentezine göre düzenlenir (Frei ve ark. 1990). CoQ<sub>10</sub> hücrede çok çeşitli fonksiyonlarda rol oynamaktadır.

CoQ<sub>10</sub>' in kinol formu mitokondri iç zarında serbest radikalleri direkt bastırarak ya da α- tokoferoksil radikalini indirgeyerek potansiyel antioksidan rolü oynar ve lipit peroksidasyonunu inhibe eder (Kwong ve ark., 2002).

Bleomisin'in değişik kanser türlerinde etkili bir ajan olduğu bildirilmesine rağmen, yapılan farklı klinik çalışmalarda BLM kullanımına bağlı olarak zaman içerisinde interstisyal akciğer fibrozisine sebep olduğundan kullanımının kısıtlanması gerektiği vurgulanmıştır (Giri ve ark. 1995). Yine aynı çalışmalarda, BLM' nin akciğer toksisitesine neden olmasının mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır.

Antioksidan savunma, radikal metabolit üretiminin engellenmesi, temizlenmesi, hücrelerin onarılması, sekonder zincir reaksiyonların durdurulması ve antioksidan kapasitesinin artırılması için görev yapan sistemlerdir. Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, tokoferol, askorbat, glutatyon, ürik asit, glukoz gibi maddeler antioksidan maddelerdir (Dündar ve Aslan, 2000).

Lipit peroksidasyonu organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan doymamış yağ asiti zincirlerinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılmasıyla başlar. En önemli peroksidasyon ürünü malondialdehitir (Akkuş, 1995; Moslen, 1994). Oluşan malondialdehit hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin, çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Moslen, 1994).

Sunulan çalışmada Bleomisin uygulanan ratlarda CoQ<sub>10</sub>'nin lipit peroksidasyonu, antioksidan profil ve biyokimyasal parametrelerden, albumin, globulin, total protein, ALT, ALP, glikoz, total bilirubin ve BUN düzeylerine etkisini irdelemek amaçlandı. Saptanan değerler yardımıyla CoQ<sub>10</sub>'nin antioksidant özelliği ve fibrozis oluşumu üzerine faydalı etkileri yorumlanacaktır.

## MATERYAL ve METOT

Bu çalışmanın materyalini 180–200 gr canlı ağırlığa sahip altı ve dokuz aylık 60 Wistar –Albino ırkı erkek rat oluşturdu. Ratlar onarlı üçer ayrı gruba ayrıldı. Ratlardan gruplara ayrılmadan önce kontrol verilerini oluşturmak amacıyla kan örnekleri alındı.

Altı ve dokuz aylık ratların gruplara bölünmesi;

1. Grup: BLM-S, ratlara 7,5 mg/kg/canlı ağırlık oranında intratrakeal olarak tek doz şeklinde uygulandı. Grup on adet rattan oluşturuldu.
2. Grup: BLM-S, ratlara 7,5 mg/kg/canlı ağırlık oranında intratrakeal olarak tek doz şeklinde uygulandı. CoQ<sub>10</sub> ise 4 mg/kg/canlı ağırlık oranında i.p. olarak altı hafta süreyle hergün uygulandı. Grup on adet rattan oluşturuldu.
3. Grup: CoQ<sub>10</sub> 4 mg/kg/canlı ağırlık oranında i.p. olarak altı hafta süreyle hergün uygulandı. Grup on adet rattan oluşturuldu.

Çalışmanın başında, üçüncü haftasında ve altıncı haftasında olmak üzere toplam üç kez etik kurallara uyularak uyutulan ratların direkt kalplerinden kan örnekleri alındı. BLM-S, ratlara 7,5 mg/kg/canlı ağırlık oranında intratrakeal olarak tek doz şeklinde uygulandı (Özyurt ve ark. 2004). CoQ<sub>10</sub> 4 mg/kg/canlı ağırlık oranında intraperitoneal olarak altı hafta süreyle hergün uygulandı (Rowland, 1998).

GSH, EDTA'lı tam kanın presipite edilmesinden sonra elde edilen sıvının DTNB ile verdiği renk reaksiyonunun ölçülmesi esasına göre (Beutler ve ark. 1963; Rizzi ve ark., 1988), MDA ölçümleri TBA reaktivitesi metodu ile (Gutteridge 1995; Sushil ve ark. 1989), seruloplazmin tayini modifiye Rawin metoduna göre gerçekleştirildi (Rawin, 1986). Plazma vitamin A ve vitamin E düzeyleri Miller ve Yang (1985)'in belirttiği ekstraksiyon metodu kullanılarak belirlendi.

Albumin, globulin, total protein, ALT, ALP, glukoz, total bilirubin ve BUN analizleri Abaxis VetScan Diagnostik kitleriyle Vet Scan otoanalizöründe yapıldı.

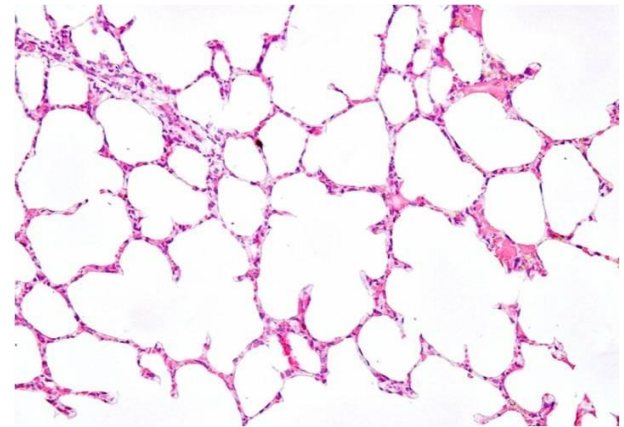
Etik kurallara uygun bir şekilde uyutulan ratlardan alınan ve +4 °C'da % 10 luk nötral formal çözeltilisinde muhafaza edilen akciğer örneklerinin tespiti yapıldıktan sonra, bunlardan rutin işlemlerle parafin bloklar hazırlanarak 7 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler hemotoksilen-eosin boyama tekniği ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (Bancroft and Cook, 1984).

Deneme grubu verileri ile kontrol grubu değerleri karşılaştırıldı. Elde edilen verilerin gruplar arası çoklu karşılaştırmaları SPSS One Sample T testi kullanılarak yapıldı. Verilere ait değerler  $\bar{x} \pm S_x$  olarak tablolar halinde gösterildi (Akgül, 1997).

## BULGULAR

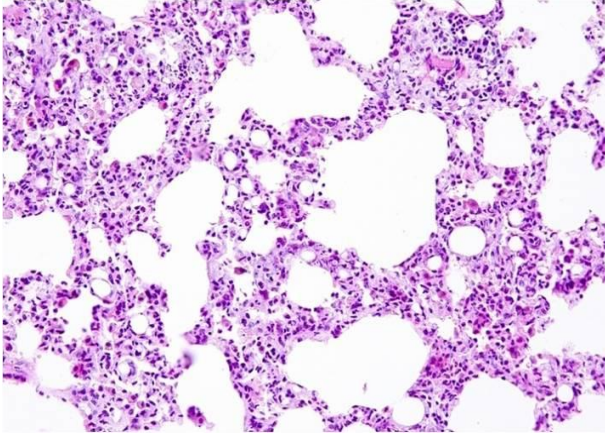
Altı aylık ratlara ait 3. ve 6. hafta MDA, GSH, Seruloplazmin, Retinol ve α-tokoferol düzeyleri Tablo 1'de, 9 aylık ratlara ait olan parametreler Tablo 2'de sunulmuştur. 6 aylık olan ratların biyokimyasal parametreleri Tablo 3'te, 9 aylık olanları ise Tablo 4'te verilmiştir.

Normal rat akciğeri mikroskopik görünümü Şekil 1'de, BLM uygulanan 6 aylık ratların akciğer mikroskopisi Şekil 2'de, 9 aylık ratların akciğer mikroskopik görünümü Şekil 3'de, BLM+CoQ<sub>10</sub> uygulanan grubun akciğeri mikroskopik yapısı 6 aylıklarda Şekil 4'de, 9 aylıklarda Şekil 5'de, sadece CoQ<sub>10</sub> uygulanan 6 aylık ratlara ait mikroskopik görünüm Şekil 6'da, 9 aylıkların Şekil 7'de sunulmuştur.



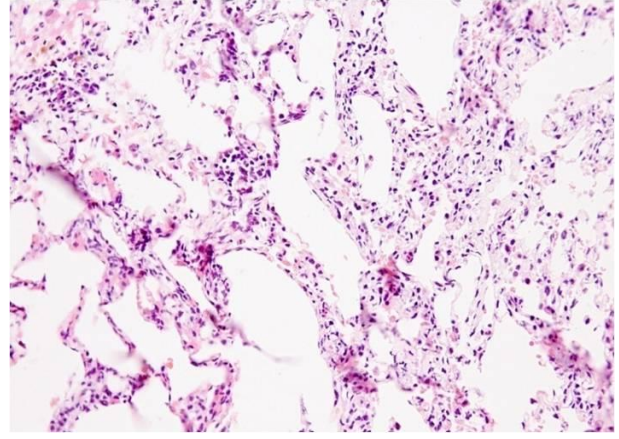
**Şekil 1.** İnteralveoler septum ve alveollerin normal görünümü. H.E X 300

**Figure 1.** Normal appearance of interalveolar septum.H.EX300



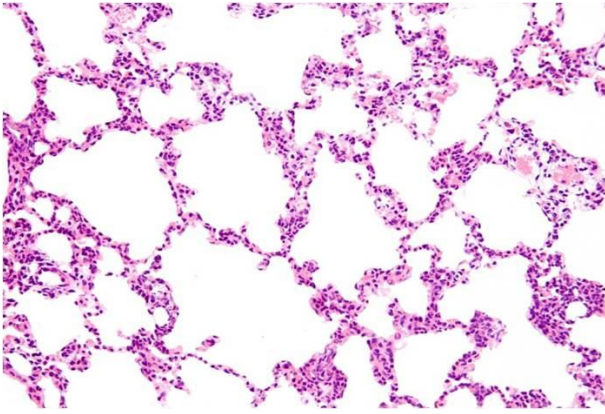
**Şekil 2.** BLM-S uygulanan altı aylık ratlarda interalveoler septumda fibroblast, lökosit ve kapillar hiperemi sonucu belirgin kalınlaşma. H.E X 300.

**Figure 2.** Distinctive thickening in interalveolar septum consequential of fibroblast, leucocyte and capillary hyperemia BLM-S applied six month rats. . H.E X 300.



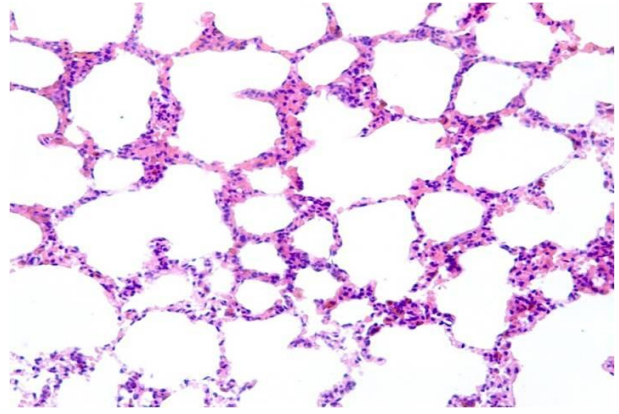
**Şekil 3.** BLM-S uygulanan dokuz aylık ratlarda interalveoler septumda fibrozis sonucu belirgin kalınlaşma. H.E X 300.

**Figure 3.** Distinctive thickening in interalveolar septum consequential of fibrosis in BLM applied nine month rats. H.E X 300.



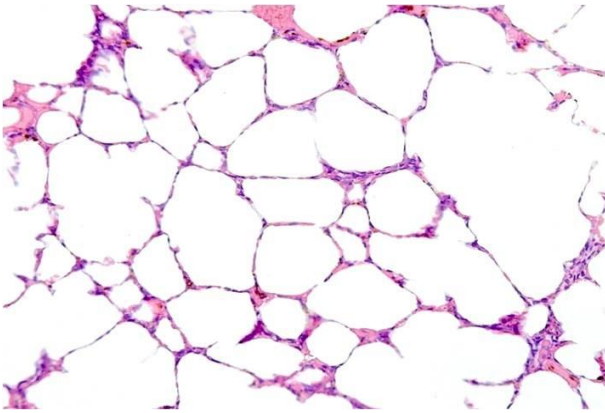
**Şekil 4.** BLM-S ve CoQ<sub>10</sub> uygulanan altı aylık ratlarda İnteralveoler septumda fibroblast ve lökosit sonucu hafif kalınlaşma. H.E X 300.

**Figure 4.** Light thickening in interalveolar septum consequential of fibroblast, leucocyte in BLM-S and CoQ<sub>10</sub> applied six month rats. . H.E X 300.



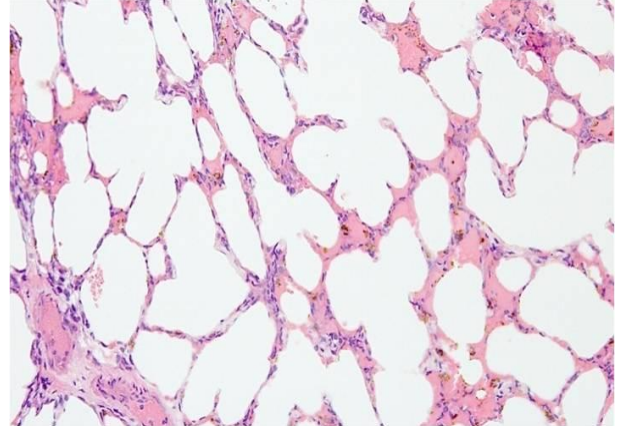
**Şekil 5.** BLM-S ve CoQ<sub>10</sub> dokuz aylık ratlarda: İnteralveoler septumda fibroblast, lökosit ve kapillar hiperemi sonucu hafif kalınlaşma. H.E X 300.

**Figure 5.** Light thickening in interalveolar septum consequential of fibroblast, leucocyte and capillary hyperemia applied BLM-S and CoQ<sub>10</sub> nine month rats. . H.E X 300.



**Şekil 6.** CoQ<sub>10</sub> uygulanan altı aylık ratlarda: interalveoler septumların bir kısmında hiperemi, bazı alveollerde amfizem. H.E X 300.

**Figure 6.** Hyperemia in some part of interalveolar septum, emphysema in some alveole applied CoQ<sub>10</sub> six month rats. H.E X 300.



**Şekil 7.** CoQ<sub>10</sub> uygulanan dokuz aylık ratlarda interalveoler septumlarda hiperemi hafif kalınlaşma. H.E X 300.

**Figure 7.** Light thickening in interalveolar septum hyperemia CoQ<sub>10</sub> applied nine month rats. H.E X 300.

**Tablo 1.** Altı aylık ratlarda üçüncü ve altıncı hafta kontrol ve çalışma grupları, MDA, GSH, Serüloplazmin, Retinol ve  $\alpha$ -Tokoferol düzeyleri.  
**Table1.** Levels of MDA, GSH, ceruloplasmin, retinol, and  $\alpha$ -tocopherol in third and sixth weeks six month rats.

Parametreler	n	6 Ay							
		3.Hafta				6. Hafta			
		Kontrol	BLM	CoQ <sub>10</sub>	BLM+CoQ <sub>10</sub>	Kontrol	BLM	CoQ <sub>10</sub>	BLM+CoQ <sub>10</sub>
MDA (nmol/ml)	7	0.868±0.176	1.261±0.250 <sup>b</sup>	2.603±1.026 <sup>d.y.y</sup>	0.803±0.165 <sup>b.y</sup>	0.868±0.176	1.261±0.250 <sup>b</sup>	2.603±1.026 <sup>d.y.y</sup>	0.803±0.165 <sup>b.y</sup>
GSH(mg/dl)	7	0.338±0.319	0.326±0.038 <sup>c</sup>	0.068±0.005 <sup>a.z.x</sup>	0.183±0.020 <sup>a.z</sup>	0.338±0.319	0.326±0.038 <sup>c</sup>	0.068±0.005 <sup>a.y.x</sup>	0.183±0.020 <sup>a</sup>
Serüloplazmin (%mg)	7	63.800±2.372	36.972±0.455 <sup>a</sup>	34.776±2.011 <sup>a.x.x</sup>	30.210±2.754 <sup>a.x</sup>	63.800±2.372	36.972±0.455 <sup>a</sup>	34.776±2.011 <sup>a.y.x</sup>	30.210±2.754 <sup>a.y</sup>
Retinol	7	0.500±0.008	0.482±0.019 <sup>a</sup>	0.510±0.075 <sup>b.x.x</sup>	0.516±0.052 <sup>a.x</sup>	0.500±0.008	0.532±0.06 <sup>a</sup>	0.482±0.030 <sup>b.x.x</sup>	0.428±0.106 <sup>b.x</sup>
$\alpha$ -Tokoferol	7	1.596±0.220	1.262±0.154 <sup>b</sup>	1.356±0.307 <sup>b.y.z</sup>	1.576±0.121 <sup>a.z</sup>	1.596±0.220	1.168±0.251 <sup>b</sup>	0.786±0.168 <sup>b.x.x</sup>	0.812±0.238 <sup>c.x</sup>

\*<sup>a</sup> P<0.001; <sup>b</sup> P< 0.01; <sup>c</sup> P<0.05; <sup>d</sup> P>0.05; a,b,c,d, (Kontrol grubuna göre çalışma grubunun istatistiki analizleri)

\*<sup>x</sup> P<0.001; <sup>y</sup> P<0.01; <sup>z</sup> P<0.05; <sup>t</sup> P>0.05; x,y,z,t, (Gruplar arası istatistiki analizler)

**Tablo 2.** Dokuz aylık ratlarda üçüncü ve altıncı hafta kontrol ve çalışma grupları, MDA, GSH, Serüloplazmin, Retinol ve  $\alpha$ -Tokoferol düzeyleri.  
**Table 2.** third and sixth weeks, control and practice groups MDA, GSH, ceruloplasmin, retinol and  $\alpha$ -tocopherol levels nine month rats.

Parametreler	n	9 Ay							
		3.Hafta				6. Hafta			
		Kontrol	BLM	CoQ <sub>10</sub>	BLM+CoQ <sub>10</sub>	Kontrol	BLM	CoQ <sub>10</sub>	BLM+CoQ <sub>10</sub>
MDA(nmol/ml)	7	1.114±0.228	0.790±0.246 <sup>c</sup>	0.712±0.200 <sup>b.t.y</sup>	1.308±0.229 <sup>b.y</sup>	1.114±0.228	4.456±0.390 <sup>a</sup>	2.770±0.318 <sup>a.y.y</sup>	1.982±0.094 <sup>a.y</sup>
GSH(mg/dl)	7	0.260±0.033	0.197±0.018 <sup>a</sup>	0.062±0.002 <sup>a.x.x</sup>	0.087±0.004 <sup>a.x</sup>	0.260±0.033	0.011±0.001 <sup>a</sup>	0.011±0.001 <sup>a.x.x</sup>	0.009±0.001 <sup>a.x</sup>
Serüloplazmin (%mg)	7	58.349±6.182	65.412±9.897 <sup>b</sup>	53.040±6.607 <sup>a.y.y</sup>	57.117±8.963 <sup>b.y</sup>	58.349±6.182	113.468±8.023 <sup>a</sup>	98.402±4.014 <sup>a.x.x</sup>	76.882±2.932 <sup>a.x</sup>
Retinol	7	0.364±0.052	0.400±0.082 <sup>b</sup>	0.476±0.050 <sup>a.y.y</sup>	0.494±0.029 <sup>b.y</sup>	0.364±0.052	0.394±0.081 <sup>b</sup>	0.362±0.089 <sup>b.y.x</sup>	0.496±0.081 <sup>b.y</sup>
$\alpha$ -Tokoferol	7	1.018±0.180	0.778±0.278 <sup>c</sup>	1.466±0.182 <sup>a.z.z</sup>	1.276±0.048 <sup>a.x</sup>	1.018±0.180	0.776±0.289 <sup>c</sup>	0.452±0.137 <sup>c.z.x</sup>	0.664±0.215 <sup>c.z</sup>

**Tablo 3.** Altı aylık ratlarda üçüncü ve altıncı hafta kontrol ve çalışma grupları biyokimyasal parametre düzeyleri.**Table 3.** biochemical parameter levels of third and sixth weeks, control and practice groups six month rats.

Parametreler	n	6 Ay							
		3.Hafta				6. Hafta			
		Kontrol	BLM	CoQ <sub>10</sub>	BLM+CoQ <sub>10</sub>	Kontrol	BLM	CoQ <sub>10</sub>	BLM+CoQ <sub>10</sub>
Albumin	7	41.00±3.59	44.00±2.42 <sup>b</sup>	48.60±1.40 <sup>a.x.y</sup>	37.60±7.11 <sup>b.x</sup>	41.00±3.59	41.20±2.43 <sup>b</sup>	43.40±2.06 <sup>b.x.x</sup>	32.00±2.49 <sup>a.x</sup>
Globülin	7	14.60±0.87	31.60±6.21 <sup>b</sup>	23.00±1.26 <sup>b.y.x</sup>	23.40±2.87 <sup>a.y</sup>	14.60±0.87	30.20±1.77 <sup>b</sup>	23.80±0.96 <sup>a.x.x</sup>	45.00±5.52 <sup>b.x</sup>
Total Protein	7	56.20±4.28	78.60±4.56 <sup>b</sup>	71.80±1.78 <sup>b.x.y</sup>	59.20±9.28 <sup>b.x</sup>	56.20±4.28	78.40±3.80 <sup>b</sup>	68.60±2.52 <sup>b.x.x</sup>	76.00±3.49 <sup>b.x</sup>
ALT	7	32.00±1.37	39.00±1.04 <sup>a</sup>	36.60±2.44 <sup>b.x.y</sup>	44.40±7.00 <sup>b.x</sup>	32.00±1.37	38.00±2.54 <sup>a</sup>	31.20±0.073 <sup>b.x.x</sup>	25.00±1.81 <sup>a.x</sup>
ALP	7	9.60±1.28	7.60±0.92 <sup>a</sup>	6.80±1.06 <sup>a.x.x</sup>	9.60±1.07 <sup>d.x</sup>	9.60±1.28	9.00±1.41 <sup>b</sup>	9.80±0.583 <sup>b.y.x</sup>	9.40±0.50 <sup>b.y</sup>
Glukoz	7	6.76±0.57	4.34±0.33 <sup>a</sup>	3.28±0.24 <sup>b.x.y</sup>	3.02±0.81 <sup>b.x</sup>	6.76±0.57	2.44±0.65 <sup>b</sup>	2.98±0.77 <sup>b.y.y</sup>	3.68±0.62 <sup>b.y</sup>
Total Bilirubin	7	6.40±0.24	6.20±0.58 <sup>b</sup>	6.40±0.50 <sup>a.x.x</sup>	5.80±0.86 <sup>b.x</sup>	6.40±0.24	6.40±0.24 <sup>d</sup>	6.40±0.50 <sup>d.z.x</sup>	6.20±0.37 <sup>d.z</sup>
BUN	7	8.92±0.55	7.50±0.28 <sup>a</sup>	8.08±0.20 <sup>a.x.y</sup>	5.36±0.87 <sup>b.x</sup>	8.92±0.55	7.98±0.44 <sup>a</sup>	6.32±0.46 <sup>a.x.x</sup>	6.26±0.49 <sup>a.x</sup>

**Tablo 4.** Dokuz aylık ratlarda üçüncü ve altıncı hafta kontrol ve çalışma grupları biyokimyasal parametre düzeyleri.**Table 4.** biochemical parameter levels of third and sixth weeks, control and practice groups nine month rats.

Parametreler	n	9 Ay							
		3.Hafta				6. Hafta			
		Kontrol	BLM	CoQ <sub>10</sub>	BLM+CoQ <sub>10</sub>	Kontrol	BLM	CoQ <sub>10</sub>	BLM+CoQ <sub>10</sub>
Albumin	7	44.60±0.927	28.20±5.238 <sup>b</sup>	42.20±1.98 <sup>b.x.x</sup>	41.00±1.22 <sup>c.x</sup>	44.60±0.927	40.60±2.97 <sup>b</sup>	41.40±2.33 <sup>d.x.x</sup>	38.00±2.16 <sup>b.x</sup>
Globülin	7	24.00±4.207	51.80±3.83 <sup>b</sup>	35.60±2.29 <sup>b.x.x</sup>	37.00±2.09 <sup>b.x</sup>	24.00±4.207	37.80±2.43 <sup>b</sup>	34.40±3.52 <sup>b.x.x</sup>	39.20±1.98 <sup>b.x</sup>
Total Protein	7	68.40±3.18	78.20±7.05 <sup>a</sup>	77.80±1.24 <sup>a.y.y</sup>	69.20±11.01 <sup>b.y</sup>	68.40±3.18	81.80±3.63 <sup>a</sup>	75.80±2.72 <sup>a.x.x</sup>	80.40±1.24 <sup>a.x</sup>
ALT	7	38.40±2.180	41.60±1.20 <sup>a</sup>	56.80±7.41 <sup>a.x.x</sup>	45.60±1.32 <sup>a.x</sup>	38.40±2.180	37.60±5.46 <sup>b</sup>	39.80±1.77 <sup>b.x.x</sup>	38.80±3.96 <sup>b.x</sup>
ALP	7	10.20±0.66	11.60±1.32 <sup>a</sup>	9.80±1.15 <sup>a.x.x</sup>	8.00±0.89 <sup>a.x</sup>	10.20±0.66	7.80±0.86 <sup>a</sup>	6.60±1.40 <sup>b.x.y</sup>	8.60±1.66 <sup>b.x</sup>
Glukoz	7	7.32±0.49	2.82±0.43 <sup>b</sup>	2.78±0.57 <sup>b</sup>	2.56±0.47 <sup>b.y</sup>	7.32±0.49	1.30±0.34 <sup>b</sup>	1.08±0.70 <sup>a.t.t</sup>	1.30±0.42 <sup>b.t</sup>
Total Bilirubin	7	6.40±0.40	6.60±0.50 <sup>a</sup>	6.00±0.63 <sup>a.x.x</sup>	6.80±0.20 <sup>b.x</sup>	6.40±0.40	6.40±0.24 <sup>b</sup>	6.80±0.20 <sup>a.x.x</sup>	6.40±0.24 <sup>a.x</sup>
BUN	7	9.14±0.90	6.66±0.24 <sup>a</sup>	7.16±0.40 <sup>a.y.y</sup>	5.52±0.34 <sup>a.y</sup>	9.14±0.90	7.92±0.37 <sup>a</sup>	6.02±0.30 <sup>a.x.x</sup>	6.06±0.60 <sup>a.x</sup>

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozis modeli hastalığın aşamalarını ve akciğer yapısı ile fonksiyonunu açıklığa kavuşturmak için kullanılan en önemli modeldir. Bir antineoplastik ajan olan BLM'nin etki mekanizması; BLM-demir kompleksinin moleküler oksijeni süperoksit ve hidroksil radikaline indirgeyerek, DNA zincirinde kırılma oluşturmaktadır. Yapılan in vitro çalışmalarda antioksidan tedavisi ile BLM'ye bağlı DNA ve hücre hasarının inhibe olduğu gösterilmiştir. Reaktif oksijen radikalleri ve proteazlar genellikle bu inflamatuvar hücrelerden salgılanarak akciğer dokusunda hasar oluşturur ve onarım sürecinde aşırı fibrozis gelişir (Erden ve ark., 2008).

CoQ<sub>10</sub>, ubiquinon olarak da bilinip, endojen hücrel antioksidan olarak tüm dokularda ve deride bulunur. Deride serbest radikalleri azaltarak, vitamin E'yi korur. Redükte formu hücre membranları ve serum LDL'lerinde lipit peroksidasyonunu inhibe ederek oksidatif stresi önler (Lazarus ve Baumann, 2001). CoQ<sub>10</sub>'ün kinol formu mitokondri iç zarında serbest radikalleri direkt bastırarak ya da α-tokoferoksil radikalini indirgeyerek potansiyel antioksidan rolü oynar ve lipit peroksidasyonunu inhibe eder (Kwong ve ark., 2002).

Serbest radikallerin hücrel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı hücrel savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşması ile bu moleküllerin kanser, şeker, kalp hastalıkları gibi birçok hastalıkla ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır. Çeşitli patolojik durumlar sırasında birçok hücre tipinde oksijenin redüksiyonundan oluşan bazı türlerin olağan dışı ve şiddetli üretimiyle karakterize oksidatif stresin meydana geldiği günümüzde iyi bilinmektedir (Nornberg and Arner 2001).

Radikallerle oldukça hızlı reaksiyonlara girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanır (Aslan ve ark., 1995). Bir şekilde oluşturulan herhangi bir ilk radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküller ve hücrel yapılara saldırmasının önlenmesi antioksidan savunma sisteminin görevidir (Byung, 1994).

Sunulan çalışmada BLM uygulanan ratlarda yapılan analizlerde MDA düzeylerinde deneme sonunda hem üç aylık hem de altı aylık gruplarda istatistik düzeyde anlamlı artmalar gözlemlendi. Nitekim Sleijsfer'in yapmış olduğu bir çalışmada (Sleijsfer, 2001) bleomisin süperoksit ve hidroksil radikallerini içeren reaktif oksijen radikallerini ürettiği bildirilmektedir. BLM uygulamasını takiben kollojen üretiminin uyarıldığı, yıkılımının ise inhibe edildiği yine aynı çalışmada bildirilmiştir. Bleomisin toksisitesi, otokatalitik bir mekanizma ile hücrel membranların hasarına yol açan lipit peroksidasyonu ile ilişkilidir ve membran yıkımı toksik, reaktif metabolitlerin üretimi ve hücre ölümüne yol açabilir.

BLM ile beraber Q<sub>10</sub>'ünde verildiği bir diğer çalışma grubunda her iki uygulama grubunda saptanan MDA düzeylerinde, kontrollerine göre yükselmeler saptandı. Fakat bu artışlar BLM verilen grupla karşılaştırıldığında, Q<sub>10</sub> verilen gruptaki artışların BLM verilen gruptaki artışlar kadar yüksek olmadığı şeklinde gözlemlendi.

Quinn ve ark., (Quinn ve ark., 1980) karbontetraklorür toksikasyonundan kaynaklanan oksidatif hasarlara karşı Q<sub>10</sub>'ün karaciğer hücreleri üzerine koruyucu etkilerinin olduğunu yaptıkları bir çalışmada gözlemlemişlerdir. Diğer bazı yazarlar bu gözlemleri doğrulamışlardır. Nitekim Beyer (Beyer, 1990) karbontetraklorür ve etanolden kaynaklanan lipit peroksidasyonu üzerine Q<sub>10</sub>'ün inhibe

edici bir etkisinin olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde Dlugosz ve Piotrowska (2002) da organik solvent karışımlarından (boya, cila gibi) kaynaklanan oksidatif strese karşı Q<sub>10</sub>'ün organizmanın direncini arttırdığını yaptıkları bir çalışmada bildirmişlerdir. (Piotrowska ve ark., 2002) Xylene, benzin ve bunların metanollü karışımlarının neden olduğu lipit peroksidasyonunun Q<sub>10</sub> ve Vit E verilerek kısmen inhibe edilebileceğini saptamışlardır. Yapılan bir başka çalışmada da organik solventlerden kaynaklanan lipit peroksidasyonunu yüksek dozda uygulanan Q<sub>10</sub>'ün inhibe ettiği belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada yüksek dozda kullanılan Q<sub>10</sub>'ün inhibisyon yanında onarıcı etkisinin de olduğu gözlemlenmiştir. Düşük dozdaki Q<sub>10</sub>'ün sadece koruyucu etkisinin olduğu, onarıcı etkisinin olmadığı aynı çalışmada belirtilmiştir. Q<sub>10</sub>'ün bu antioksidan özelliğinin süperoksit radikali ile direkt reaksiyona girmesi ve serbest radikalleri toplamasıyla ilişkili olduğu aynı literatürde ileri sürülmüştür (Dlugosz ve ark., 2005). Q<sub>10</sub> uygulanan ratlarda hem üçüncü haftadaki analizlerde hem de altıncı haftadaki analizlerde MDA miktarlarında artışlar saptandı. Dokuz aylık deneme grubunda saptanan artışlar kontrol verilerine kıyasla üçüncü haftada daha düşük, altıncı haftada ise daha yüksek olarak gözlemlendi. Fakat bu yükselmelerin sadece bleomisin verilen gruba göre daha düşük olduğu saptandı. Bleomisin ve Q<sub>10</sub> verilen grup yalnız bleomisin verilen grupla karşılaştırıldığında altı aylık çalışma grubu ratlarda ölçülen MDA miktarlarındaki artışların daha düşük olduğu gözlemlendi. Dokuz aylık olan rat deneme grubunda altıncı haftadaki MDA düzeylerindeki artışların bleomisin verilen gruba göre daha düşük düzeyde gerçekleştiği belirlendi.

Yalnızca bleomisin uygulandığı altı ve dokuz aylık çalışma grubu ratların akciğer dokularında yapılan histopatolojik bakımlarında, altı aylık olanlarda interalveolar septumlarda fibroblastlardan, lökositlerden ve kapiler hiperemilerden kaynaklanan belirgin kalınlaşmalar gözlemlendi (Şekil 2). Dokuz aylık olanlarda da interalveolar septumlarda fibrozis sonucu belirgin kalınlaşmalar saptandı (Şekil 3).

Serbest radikalleri ve lipit peroksidatörlerini indirgemede anahtar rolü oynayan GSH, biotransformasyon ile oluşan zehirli maddelerin uzaklaştırılmasında da etkilidir (Vural, 1996). GSH hücrelerin önemli bir antioksidan bileşimidir ve herhangi bir nedenle oksidatif stresin arttığı durumlarda hücre içindeki mevcut glutatyon hızla tükenir (Uzel, 1988). Sunulan bu çalışmada bleomisin uygulanan altı ve dokuz aylık ratlarda hesaplanan GSH miktarlarında istatistiksel olarak da önem arz eden düşmeler gözlemlendi. Diğer çalışma grubu bleomisin ve Q<sub>10</sub> uygulanan ratlarda ölçülen GSH düzeylerinde saptanan azalmaların bleomisin verilen gruptaki azalmalardan daha fazla olduğu saptandı. Sadece Q<sub>10</sub> verilen rat grubunda da bu azalmalar bleomisin grubuna göre daha fazla olarak şekillendi. Bu azalmalar oluşan oksidatif strese bağlı olarak glutatyon depolarının hızla tükendiğini göstermektedir.

Başlıca karaciğerde sentezlenen seruloplazmin inflamasyon ve doku hasarı gibi durumlarda ılımlı yanıt gösteren bir akut faz proteindir (McPearson, 1996). Seruloplazmin antioksidan etkisini üç farklı şekilde göstermektedir. Birincisi, seruloplazmin ferro demirin, ferri demire okside olmasını katalizleyerek bir ferro oksidaz enzimi gibi fonksiyon yapabilir. İkincisi, seruloplazminin bir antioksidan olarak serbest radikal toplayıcı özelliği ile ilişkilidir. Üçüncüsü, seruloplazminin antioksidan etkisi bakır iyonunu bağlama yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Seruloplazmin bakır iyonunu

bağlayarak bakırın serbest radikal uyarıcı etkisini engellemektedir (Gündoğdu, 2005).

Çalışmamızda her üç deneme grubu ratlarda seruloplazmin miktarlarında altıncı hafta sonunda yapılan ölçümlerde anlamlı yükselmeler gözlemlendi. Tüm gruplarda (bleomisin uygulanan dokuz aylık ratlar dışında) üçüncü haftada yapılan seruloplazmin analizlerinde azalmalar saptandı. Fakat deneme sonuna doğru bu azalmalar artışla sonuçlandı. Bleomisin + CoQ<sub>10</sub> ve yalnızca CoQ<sub>10</sub> uygulanan dokuz aylık çalışma grubu ratlarda altıncı hafta sonunda hesaplanan CoQ<sub>10</sub> miktarları sadece bleomisin uygulanan deneme grubu ratlardaki ölçülen seruloplazmin miktarlarından daha az olduğu gözlemlendi. Altı aylık olan gruplarda ise bleomisin uygulanan ratlarda saptanan seruloplazmin düzeylerindeki artışlar, bleomisin+CoQ<sub>10</sub> ve CoQ<sub>10</sub> verilen ratlardaki artışlara göre daha az şekillendi.

Yapılan bir çalışmada hücrelerde şekillenen lipit peroksidasyonuna bağlı olarak antioksidan maddelerden glutatyon düzeyinde azalmaların, seruloplazmin miktarlarında ise artışların olduğu gözlenmiştir (Byung, 1994).

Yağda çözünen bir antioksidan olan β-karoten çok etkili bir triklorometil peroksil radikali indirgeyicisi ve singlet oksijen bastırıcısı olarak işlev görmektedir (Seven ve Candan 1996). Yapılan çalışmalar, β-karotenin doğada bilinen en etkili singlet oksijen bastırıcısı olduğunu (Torun ve Yardım, 1993) göstermiştir. β-karoten ve retinol antioksidan aktivitesini serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek ve ortamdaki radikalleri toplayarak da gerçekleştirmektedir (Aalt ve ark., 1991). Sunulan çalışmada BLM uygulanan deneme grubu altı aylık ve dokuz aylık ratlarda altıncı hafta sonunda yapılan analizlerde kontrol değerlerine göre retinol düzeylerinde yükselmeler gözlemlendi. Bleomisinle beraber Q<sub>10</sub> verilen diğer deneme grubunda altı aylık olanlarda kontrollerine göre üçüncü haftada artışlar altıncı haftada ise düşmeler gözlemlendi. Dokuz aylık olan ratlarda ise hem üçüncü hafta analizlerinde hem de altıncı hafta analizlerinde artışlar gözlemlendi. Q<sub>10</sub>'nin tek başına verildiği bir diğer çalışma grubundaki retinol düzeylerinde gözlenen değişimler üçüncü haftalardaki analizlerde artış, altıncı haftalarda ise düşüş olarak şekillendi.

Vitamin E optimal hücre faaliyetlerini sağlamak için gerekli olan son derece önemli bir antioksidandır. Lipitte çözünürlüğünün fazla olması nedeni ile membran fosfolipitlerine kolayca diffüze olabilmekte ve süperoksit, hidroksil ve lipit peroksil radikallerini indirgeyerek, bunların biomembranlarda oluşturabileceği lipit peroksidasyonunu önlemektedir (Akkuş 1995; Seven ve Candan,1996).

Lipit peroksidasyonuna karşı savunmanın en yoğun olduğu hücre içi organelleri ve hücre zarlarında yer alan α-tokoferolün antioksidan etkisi, kimyasal yoldan en aktif kısmı olan fenolik hidroksil grubundan ileri gelmektedir. E vitamini serbest radikalleri temizleyerek, kanser oluşumunu engellemektedir. Bu etkisine ilaveten E vitamininin immun sistemi kimyasal maddelerin etkisinden koruduğu da bildirilmektedir. (Akkuş, 1995; Torun ve Yardım, 1993).

Bleomisin uygulanan çalışma grubu ratlarda hem altı aylık olanlarda hem de dokuz aylık olanlarda α-tokoferol düzeylerinde kontrol değerlerine göre her iki kan alımı dönemlerinde düşmeler gözlemlendi. Bleomisine ilave olarak Q<sub>10</sub> verilen altı aylık deneme grubunda hem üçüncü hem de altıncı haftalardaki analizlerde α-tokoferol miktarlarında azalmalar saptandı. Dokuz aylık ratların

oluşturduğu grupta yapılan ölçümlerde üçüncü haftada düşmeler gözlenirken altıncı haftada artışlar kaydedildi. Sadece Q<sub>10</sub> verilen altı aylık ratlarda üçüncü ve altıncı haftalarda alınan örneklerde yapılan ölçümlerde α-tokoferol miktarlarında düşmeler saptandı. Dokuz aylık olanlarda ise ilk kan alımında artış gözlenirken ikinci kan alımında azalmalar şekillendi. Her üç deneme grubu altı aylık ratlarda üçüncü haftada yapılan analizlerde α-tokoferol miktarları azalma eğilimi gösterirken, dokuz aylık olanlarda bu eğilim artışlar ve azalmalar şeklinde gözlemlendi.

Bleomisin ile birlikte CoQ<sub>10</sub> verilen altı aylık çalışma grubu ratların akciğer dokularında, alveoller arası septumlarda fibroblastlar ve lökosit infiltrasyonu sonucu hafif kalınlaşmalar gözlemlendi (Şekil 4). Dokuz aylık olanlarda ise, interalveolar septumlarda lökosit, fibroblast ve kapiller hiperemiye bağlı olarak yine hafif kalınlaşmalar gözlemlendi (Şekil 5). Her iki bakıda da akciğer dokusunda interalveolar septumlarda kalınlaşmalar mevcut idi fakat bu kalınlaşmaların fibrozisin oluşturduğu bleomisin verilen gruptakiler kadar belirgin olmadığı gözlemlendi.

Yalnızca CoQ<sub>10</sub> verilen deneme grubu ratların akciğer dokularında, altı aylık olan çalışma grubunda interalveolar septumların bir kısmında hiperemi ve bir kısım alveollerde amfizemler saptandı (Şekil 6). Dokuz aylık olan ratlarda ise alveoller arası septumlarda alınan hiperemiye bağlı olarak hafif kalınlaşmalar gözlemlendi (Şekil 7). CoQ<sub>10</sub> verilen grupta ciddi patolojik bozukluklar gözlenmedi.

Biyokimyasal parametrelerden, albumin, globulin ve total protein miktarlarında gözlenen değişimler kontrol verilerine göre değişen oranlarda anlam ifade etti fakat bu gözlenen değişimler referans değerler arasında seyretti.

Sonuç olarak;

1. Lipit peroksidasyonu indirekt göstergesi olan MDA düzeylerinde, BLM verilen grupta önemli düzeylerde artışlar şekillendi. Ölçülen artışlar, BLM verilen gruba göre diğer gruplarda daha az olarak gözlemlendi.
2. Güçlü bir antioksidan olan glutatyonunda, kontrol değerlerine göre çalışma gruplarında önemli azalmalar saptandı.
3. İyi bir radikal toplayıcısı olan seruloplazmin düzeylerinde deneme sonunda ciddi artışlar hesaplandı.
4. Antioksidan vitaminlerden retinolde CoQ<sub>10</sub> verilen grup dışındakilerde deneme sonunda artışlar gözlemlendi. α-tokoferol değerlerinde ise deneme sonunda azalmalar saptandı.
5. Histopatolojik bulgularda ise, bleomisin verilen grupta belirgin interalveolar septum kalınlaşmaları ve fibrozis şekillendi. BLM ve CoQ<sub>10</sub> verilen grupta bu interalveolar kalınlaşmalar, daha az şekillenirken, CoQ<sub>10</sub> verilen grupta amfizemler ve daha hafif hiperemiye bağlı kalınlaşmalar olarak şekillendiği gözlemlendi.

Bu bağlamda, ratlarda bleomisin neden olduğu akut akciğer inflamasyonu ve geç dönem fibrozisin CoQ<sub>10</sub> uygulamasıyla azaltılabileceği görüldü. Histopatolojik sonuçlar da bunu destekler niteliktedir. CoQ<sub>10</sub>'in bu koruyucu etkisi, akciğerlerde lökosit birikimini inhibe etmesi veya serbest oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ya da ortamdaki eliminasyonu ile açıklanabilir.

**KAYNAKLAR**

- Aalt B, Haenen RM, Doelman JA (1991).** Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am J Med*, 91, 3-13.
- Akgül A (1997).** Tıbbi Araştırmalarda İstatistik Analiz Teknikleri, Yüksek Öğretim Kurulu Matbaası, Ankara.
- Akkuş İ (1995).** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayroğlu F (1995).** Serbest radikal türlerin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. *Sağlık Bil Derg*, 2, 137-142.
- Bancroft JD, Cook HJ (1984).** Mammal of histological techniques, Ed., Livingstone C, New York.
- Beutler E, Dubon O, And Kelly BM (1963).** Improved method for the determination of blood glutathione., *J Lab Clin Med*, 61, 882-888.
- Beyer RE (1990).** The participation of coenzyme Q in free radical production and antioxidation. *Free Radical Biology & Medicine*, 8,545-565.
- Byung PY (1994).** Cellular defenses against damage from reactive species. *Phys Reviews* 74 (1), 139-172.
- Długosz A, Piotrowska D (2002).** Lipid peroxidation stimulated by Solvesso, Bawanol and methanol, and its counteraction by antioxidants in human placental mitochondria. *Toxicology in Vitro*, 16,649-659.
- Długosz A, Sawicka E, Marchewka Z (2005).** Styrene and ethylene glycol have a synergetic effect on lipid peroxidation that is better protected than repaired by CoQ<sub>10</sub> *Toxicology in Vitro*, 19 581-588.
- Dündar Y, Aslan R (2000).** Hekimlikte Antioksidant Stres ve Antioksidantlar, Afyon Kocatepe Üniv. 29, 4-5.
- Erden EŞ, Kırkıl G, Devenci F, İlhan N, Çobanoğlu B, Turgut T, Muz MH (2008).** Ratlarda bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisinde erdosteinin inflamasyon ve fibrozis üzerine etkileri, *Tüberküloz ve Toraks Derg*, 56(2), 127-138.
- Frei B, Kim MC, Ames BN (1990).** Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proceedings of the Natural Academy of Sciences of Philadelphia*, 87(12), 4879-4883.
- Giri SN, Sharma AK, Hyde DM, Wild JS (1995).** Ameliaretion of bleomycine - induced lung fibrozis by treatment with the platelet activating factor receptor antagonist WEB 2086 in Hamsters, *Exp Lung Research*, 21, 287-307.
- Gutteridge JM (1995).** Lipit peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 41 (12),1819-1828.
- Gündoğdu S (2005).** İnsanlarada Üst ve Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlarının Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Vitaminler ve Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Van.
- Kwong LK, Kamzalov S, Rebrinn I, Bayne AC, Jana CK, Morris P, Forster MJ, Sohal RS (2002).** Effects of coenzyme Q<sub>10</sub> administration on its tissue concentration, mitochondrial oxidant generation, and oxidative stress in the rat, *Free Radical Bio Med*, 33, 627-638.
- Lazarus MC, Baumann LS (2007).** He use of cosmeceutical moisturizers. *Derm Ther*, 2001;14.
- McPearson RA (1996).** Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. (In: Henry JB, editor.) 237-57 Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Miller KW, Yang CS (1985).** An Isocratic High-Performance Liquid Chromatography Method for the Simultaneous Analysis of Plasma Retinol,  $\alpha$ -tocopherol and Various Carotenoids. *Analytical Biochemistry*, 145, 21-26.
- Moslen MT (1994).** Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis, Free radicals in diagnostic medicine, Ed. D. Armstrong Plenum Press, NewYork Pp. 1-15.
- Nornberg and Arner ESJ (2001).** Reactive oxygen species, antioxidants and mammalian thiorodoxin system. *Free Rad Biol Med*, 31,11,1287-1317.
- Özyurt H, Söğüt S, Kart L (2004).** Unhibitory effect of caffeic acid phanthyester on bleomycine-induced lung fibrosis in rats, *Clinica Chimica Acta*, 339, 1-2, 65-75
- Piotrowska D, Długosz A, Paja KJ (2002).** Antioxidative properties of coenzyme Q<sub>10</sub> and vitamin E in exposure to xylene and gasoline and their mixture with methanol. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 59(6),427-432.
- Quinn PJ, Baum H, Haris EJ, Franklin CS, Trivedi P (1980).** The protective role of coenzyme Q against mercurial and carbon tetrachloride toxicity. In: Yamamura,Y.,Folkers, K.,Ito,Y.(Eds.),Biomed ical and Clinical Aspects of Coenzyme Q,vol. 2.Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 435-446.
- Rawin HA (1986).** An improved colorimetric enzymatic assay of ceuloplasmin. *J Lab Clin Med*, Volume 58, 161-168.
- Rizzi R, Caroli A, Bolla P, Acciailloi A, Pagnacco G (1988).** Variability of reduced glutathione levels in Massese ewes and its effect on daily milk production, *J Dairy Research*, 55, 345-353.
- Rowland M (1998).** Coenzyme Q10 treatment improves the tolerance of the senescent myocardium to pacing stres in the rat, *Cardiovasc Res*, Oct 40(1):165-73
- Seven A, Candan G (1996).** Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Med*, 27, 41-50.
- Sleijfer S (2001).** Bleomycin-induced pneumonitis. *Chest*, 120, 617-24.
- Sushil JK, Mcuie R, Duett J and Herbest JJ. (1989).** Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes, *Diabetes*, 38, 1539-1543.
- Torun M, Yardım S (1993).** Serbest radikallerin kalp-damar hastalıkları ile ilişkisi ve savunma mekanizmaları. *FABAD*,18, 173-184.
- Uzel N (1988).** Karbon Tetraklorür Uygulanan Sıçanlarda Lipit Peroksidlerinin Plazma Lesitin-Kolesterol Açıl Transferaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.
- Vural N (1996).** Toksikoloji, 2.Basım, Ankara Üniv. Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:73, Ankara,