

# İmmobilizasyon+Soğuk Stresine Maruz Kalan Sıçanlarda Karaciğer Lipit Peroksidasyonu Düzeyine Vitamin E, Selenyum ve Allopurinolün Etkileri

## THE EFFECTS OF VITAMIN E, SELENIUM AND ALLOPURINOL ON LIVER LIPID PEROXIDATION LEVELS IN RATS EXPOSED TO IMMOBILIZATION+COLD STRESS

Ensari GÜNELİ\*, Ramazan ÇİÇEK\*\*, Naime CANORUÇ\*\*\*, İlker KELLE\*\*\*\*, Hasan AKKOÇ\*\*\*\*\*, Mehmet DURSUN\*\*\*\*\*

\* Uz.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmatoloji AD,  
\*\* Doç.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD,  
\*\*\* Prof.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,  
\*\*\*\* Arş.Gör.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD,  
\*\*\*\*\* Yrd.Doç.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD, DİYARBAKIR

### Özet

**Amaç:** İmmobilizasyon (hareketsizlik)+soğuk stresi biyolojik membranlarda serbest radikal üretimini artırarak lipit peroksidasyonunu uyarır. Lipit peroksidasyonu hücre membranında poli-doymamış yağ asitlerinin oksitlemesi ile oluşan bir kimyasal reaksiyon olup, serbest radikallere bağlı hasarın saptanmasında önemli bir göstergedir. Biz bu çalışma ile sıçanlarda immobilizasyon+soğuk stresi modeliyle karaciğerde oluşturulan lipit peroksidasyonuna karşı, antioksidan etkinliğe sahip maddeler olan, Vitamin E, Selenyum ve Allopurinolün tek başlarına ve/veya kombinasyonları halinde koruyucu etkilerinin bulunup bulunmadığını araştırdık.

**Materyal ve Metod:** Bu çalışma için 6'şar adet Sprague-Dawley sıçandan oluşan 8 grup oluşturuldu: 1. Kontrol 2. Vit-E (3 mg/kg/gün, i.m., 8 hafta) 3. Vit-E (10 mg/kg/gün, i.m., 8 hafta) 4. Vit-E (100 mg/kg/gün, i.m., 8 hafta) 5. Selenyum (350 mg/kg/hafta, i.m., 8 hafta) 6. Allopurinol (50 mg/kg/gün, s.c., 5 gün) 7. Vit-E (10 mg/kg/gün, i.m., 8 hafta) + Selenyum (35 mg/kg/hafta, i.m., 8 hafta) 8. Vit-E (10 mg/kg/gün, i.m., 8 hafta) + Allopurinol (50 mg/kg/gün, s.c., 5 gün). İlaç ön uygulaması yapılan ve yapılmayan gruplara immobilizasyon + soğuk stresi uygulandı. Daha sonra sıçanlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edilerek, karaciğerleri alındı. Karaciğer dokusundaki lipit peroksidasyonunun göstergesi olan doku malondialdehit (MDA) düzeyinin tespiti için tiyobarbiturik asit metodu kullanıldı. Gruplar arasındaki farkın anlamlılığı uygun olduğunda ANOVA veya Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.  $p \leq 0.05$  ise arasındaki farkın anlamlı olduğuna karar verildi.

**Sonuçlar:** İmmobilizasyon + soğuk stresi uygulandıktan sonra karaciğer MDA düzeyleri saptandığında: Kontrole göre, ilaç uygulanan gruplarda karaciğer MDA düzeylerinin azaldığı gözlemlendi ( $p=0.009$ ). Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; Vitamin E (3 mg) ve Vitamin E + Selenyum uygulanan gruplarda MDA düzeylerinin daha düşük olduğu tespit edildi ( $p < 0.01$ ).

**Çıkarım:** Sıçanlarda; immobilizasyon+soğuk stresi ile oluşan, serbest radikallere bağlı karaciğer hasarını E vitamini, Selenyum ve Allopurinolün tek başlarına ya da kombinasyonları halinde önlebilecekleri kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Vitamin E, Selenyum, Allopurinol, Stres, Lipit peroksidasyonu, Karaciğer

T Klin Gastroenterohepatoloji 2003, 14:167-172

### Summary

**Aim:** Immobilization + cold stress stimulates lipid peroxidation of biological membranes by augmenting production of free radicals. Lipid peroxidation is a chemical reaction that happens by poly-unsaturated fatty acids of cell membrane and is an important indicator of tissue damage caused by free radicals. In this study; we have wanted to know whether antioxidant agents; Vitamin E, Selenium and Allopurinol, alone and/or in combination, have protective activity against lipid peroxidation of rat liver tissues induced by immobilization + cold stress.

**Material and Methods:** In this study we have formed 8 experimental groups that each one is consisted from 6 Sprague-Dawley rats: 1. Control 2. Vit-E (3 mg/kg/day, i.m., 8 weeks) 3. Vit-E (10 mg/kg/day, i.m., 8 weeks) 4. Vit-E (100 mg/kg/day, i.m., 8 weeks) 5. Selenium (350 mg/kg/week, i.m., 8 weeks) 6. Allopurinol (50 mg/kg/day, s.c., 5 days) 7. Vit-E (10 mg/kg/day, i.m., 8 weeks) + Selenium (35 mg/kg/week, i.m., 8 weeks) 8. Vit-E (10 mg/kg/day, i.m., 8 weeks) + Allopurinol (50 mg/kg/day, s.c., 5 days). All groups pretreated, or not, with antioxidant agents were exposed to immobilization + cold stress. After that all rats were sacrificed by cervical dislocation then livers were dissected and removed. Tiobarbituric acid method was used to determine tissue malondialdehyde (MDA) levels as an indicator of lipid peroxidation in the liver. The significance of differences among the groups was analyzed by using ANOVA or Mann-Whitney U test when appropriate. When  $p \leq 0.05$ , differences were considered as significant.

**Results:** When liver MDA levels were determined after immobilization + cold stress: we have observed that tissue MDA levels of all antioxidant agent applied groups were decreased in comparison to the control ( $p=0.009$ ). Among the antioxidant agent applied groups, tissue MDA levels were diminished in Vitamin E (3 mg) and Vitamin E + Selenium applied groups than the others ( $p < 0.01$ ).

**Conclusion:** It is concluded that; Vitamin E, Selenium and Allopurinol, alone or in combination, may be protective against liver damage induced by free radicals arisen from immobilization + cold stress in rats.

**Key Words:** Vitamin E, Selenium, Allopurinol, Stress, Lipid peroxidation, Liver

T Klin J Gastroenterohepatol 2003, 14:167-172

Klinik ve deneysel çalışmalar serbest radikal-lerin birçok fizyolojik ve patolojik olayda önemli rol oynadığını göstermektedir. Egzersiz, açlık, kimyasal maddeler, soğuk ve hareketsizlik gibi bir çok stres modelinin serbest radikal oluşumunu artırdığı ve bu radikallerin de lipit peroksidasyonunu uyardığı bilinmektedir (1-4).

Lipit peroksidasyonu membran fosfolipidlerinin poli-doymamış yağ asitlerinin, spon-tan olarak veya oksidan metabolitlerin sataşması sonucu oksidlenmesi ve peroksid türevlerine dönüştürmesidir. Serbest radikallere bağlı gelişen hasarın tespitinde önemli bir göstergedir. Lipit peroksidasyonu; membran akışkanlığında azalma, membran fonksiyonlarında bozulma, membran reseptörlerinin ve enzimlerinin inaktivasyonu, membran permeabilitesinin artışı ve özellikle hücre içinde kalsiyum iyon seviyelerinde artışa neden olarak hücrenin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini bozar. Lipit peroksidasyonunun şiddeti peroksidasyon sonucu oluşan malondialdehitin (MDA) miktarının saptanması ile tayin edilir (5-7).

Strese bağlı lipit peroksidasyonu hasarını önlemek için; süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi etkinlikleri kanıtlanmış enzimler yanısıra eksojen olarak verilen antioksidan etkinliğe sahip maddelerin de faydalı olduğu kanıtlanmıştır (1,2). E vitamini antioksidan etkinliğinden dolayı biyolojik sistemlerde özellikle hücre membranında doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemede önemli rol oynamaktadır (8,9). Selenyum, antioksidan özelliği bilinen bir iyon olup, glutatyon peroksidaz (GSH-Px)'ın fonksiyonel bir ögesi olarak bu enzimi aktif tutar ve yağ asitleri peroksidlerinin alkollere dönüşümünü katalize ederek membranı oksidatif zedelenmeye karşı korur. Hücrel ve subelüler membranların oksidatif hasarının önlenmesinde E vitamini ve selenyum birbirlerini tamamlayıcı rol oynarlar (9,10).

Stres hasar mekanizmalardan biri de ksantin oksidaza bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin oluşmasıdır. Allopurinol, ksantin oksidazı inhibe ederek, ksantin oksidaz enzimi aracılığıyla serbest oksijen radikallerinin oluşmasını engeller (11).

Deneysel bulgular karaciğer hastalıklarının patogeneğinde serbest radikallerin ve oksidatif hasarın önemli bir rol oynadığını göstermektedir. İçerdiği enzim çeşitlerinin çokluğu ve etkinliğinin fazlalığı nedeniyle önemli bir metabolizma organı olan karaciğer; ilaçların, ksenobiyotiklerin ve oksidatif stresin toksisitesinde önemli bir hedeftir. Biz bu çalışmada sıçan karaciğerinde immobilizasyon+soğuk stresi modeliyle oluşturulan lipit peroksidasyonu hasarına karşı; E vitamini, Selenyum ve Allopurinolün tek başlarına ve/veya kombinasyonları halinde koruyucu etkilerinin bulunup bulunmadığını araştırdık.

### Materyal ve Metod

Çalışmamızda Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkez'inden (DÜSAM) alınan 48 adet erişkin-erkek Sprague-Dawley sıçan (250-300 g) kullanıldı. Hayvanlarda yiyecek ve su kısıtlaması yapılmadı. Bu çalışmada NIH tarafından belirlenen "hayvan haklarının korunması" hususundaki esaslara bağlı kalındı.

Her bir grupta 6 adet sıçan bulunan 8 grup oluşturuldu:

**1. Kontrol grubu:** 8 hafta süresince sıçanlara hiç bir işlem uygulanmadı. Deney günü sadece immobilizasyon + soğuk stresi uygulandı.

**2. Vit-E (3 mg) grubu:** 8 hafta süresince sıçanlara 3 mg/kg/gün dozunda E vitamini (Ephynal ampül, Roche) intramüsküler (i.m.) olarak injekte edildi.

**3. Vit-E (10 mg) grubu:** 8 hafta süresince sıçanlara 10 mg/kg/gün dozunda E vitamini (Ephynal ampül, Roche) intramüsküler (i.m.) olarak injekte edildi.

**4. Vit-E (100 mg) grubu:** 8 hafta süresince sıçanlara 100 mg/kg/gün dozunda E vitamini (Ephynal ampül, Roche) intramüsküler (i.m.) olarak injekte edildi.

**5. Selenyum grubu:** 8 hafta süresince sıçanlara 350 mg/kg/hafta dozunda selenyum ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , Merck.) intramüsküler (i.m.) olarak injekte edildi.

**6. Allopurinol grup:** Sıçanlara, deney gününün 5 gün öncesinden başlanarak, 50 mg/kg/gün

**Tablo 1.** İmmobilizasyon + soğuk stresine maruz kalan sıçanlardaki karaciğer MDA düzeyleri

GRUP	Kontrol	Vit-E (3mg)	Vit-E (10mg)	Vit-E (100mg)	Selenyum	Allopurinol	Vit-E+ Selenyum	Vit-E+ Allopurinol
MDA (nmol/g)	18.05 ± 4.1	7.18 ± 0.5	12 ± 2.7	10.4 ± 1	8.76 ± 2.2	9.59 ± 0.2	6.68 ± 0.3	10.13 ± 0.3

dozunda allopurinol (Sigma chemical Co.) subkütan (s.c.) olarak injekte edildi. Allopurinol ekimolar NaOH solüsyonu içinde çözülerek uygulandı.

**7. Vit-E + Selenyum grubu:** Bu gruptaki sıçanlara, 8 hafta süresince 10 mg/kg/gün dozunda E vitamini ve 35 mg/kg/hafta dozunda selenyum intramüsküler (i.m.) olarak injekte edildi.

**8. Vit-E + Allopurinol grubu:** Bu gruptaki sıçanlara, 8 hafta süresince 10 mg/kg/gün dozunda E vitamini intramüsküler (i.m.) olarak ve deney gününden 5 gün önce başlanarak 50 mg/kg/gün dozunda allopurinol subkütan (s.c.) olarak injekte edildi.

İlaç ön uygulaması yapılan ve yapılmayan (kontrol) gruplara immobilizasyon (hareketsizlik) + soğuk stresi uygulandı. İmmobilizasyon + soğuk stresi şu şekilde yapıldı: Sıçanlar 24 saat öncesinden kafeslere alınarak sadece su verilerek tutuldu. Deney günü sıçanların her birine hareketsiz kalmalarını sağlayacak tel ağlarla örülü bir paket hazırlandı. Ön işlemlerden geçip deneyde kullanılmaya uygun hale gelen sıçanlar bu paketlere sokularak 4 °C'de 3 saat süresince immobilizasyon + soğuk stresine maruz bırakıldı.

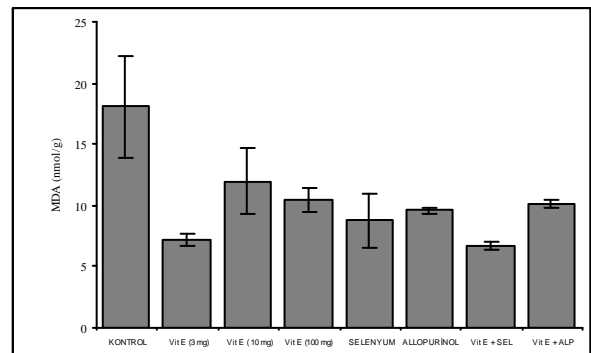
Bu aşamadan sonra sıçanlar paketlerden çıkarılarak servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Karaciğer dokusundan kanın temizlenmesi için aortadan 0.9% NaCl solüsyonu infüze edilerek doku yıkandı. Daha sonra karaciğerler disseke edildi. Karaciğer dokusundaki lipit peroksidasyonun göstergesi olan doku malondialdehit (MDA) düzeyinin tespiti için tiyobarbiturik asit metodu kullanıldı (12). Bunun için 0.5 g doku örnekleri plastik tüplere kondu. Üzerine 4.5 ml %5.5'lik triklorasetik asit (Sigma Chemical Co.) ilave edilerek soğuk ortamda homojenize edildi (Ultra-Turraks T25, 20000 devir/dk). Homojenat santrifüj

(Heraus Labofuge 200, 4000 devir/dk) edilerek süpernatant elde edildi. Süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 1 ml %0.67'lik tiyobarbiturik asit (Sigma Chemical Co.) ilave edildi. Bu karışımda reaksiyon oluşması için 100 °C'de 10 dakika bekletildi. Süre sonunda karışım soğutulmuş, oluşan pembe rengin absorbansı 532 nm'de spektrofotometre (Unicam 8625 UV/VIS Spectrometer) ile okundu. Malondialdehitin molar ekstinksiyon katsayısından yararlanılarak sonuçlar nmol/g doku olarak hesaplandı.

Elde edilen veriler bilgisayar ortamında SPSS istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunup bulunmadığı ANOVA ve Mann-Whitney U testi ile analiz edildi.  $p \leq 0.05$  ise aradaki farkın anlamlı olduğuna karar verildi.

## Sonuçlar

Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edildiğinde gruplar arasında doku MDA düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğu saptandı ( $F=3.837$ ,  $p=0.009$ ). Her gruptaki karaciğer MDA seviyeleri Tablo 1 ve Grafik 1'de gösterilmektedir. Elde edilen verilerin açıklaması şu şekildedir:



**Grafik 1.** İmmobilizasyon + soğuk stresine maruz kalan sıçanlardaki karaciğer MDA düzeyleri

1. İlaç ön uygulaması yapılmayan kontrol grubunda karaciğer MDA düzeyi *18.05 nmol/g* olarak tespit edildi.

2. İlaç ön uygulaması yapılan gruplardaki karaciğer MDA düzeyleri:

a) Vit-E (3 mg/kg) uygulanan grupta doku MDA düzeyi *7.18 nmol/g* olarak tespit edilmiş olup kontrole göre düşük bulunmuştur ( $p < 0.01$ ) ve Vit-E + Selenyum grubu hariç diğer gruplara göre ( $p \leq 0.05$ ) düşük bulunmuştur.

b) Vit-E (10 mg/kg) uygulanan grupta doku MDA düzeyi *12 nmol/g* olarak tespit edilmiş olup kontrole göre düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

c) Vit-E (100 mg/kg) uygulanan grupta doku MDA düzeyi *10.41 nmol/g* olarak tespit edilmiş olup kontrole göre düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

d) Selenyum uygulanan grupta doku MDA düzeyi *8.76 nmol/g* olarak tespit edilmiş olup kontrole göre düşük göstermiştir ( $p < 0.05$ ).

e) Allopurinol uygulanan grupta doku MDA düzeyi *9.6 nmol/g* olarak tespit edilmiş olup kontrole göre düşük göstermiştir ( $p < 0.05$ ).

f) Vit-E + Selenyum uygulanan grupta doku MDA düzeyi *6.68 nmol/g* olarak tespit edilmiş olup kontrole göre düşük göstermiştir ( $p < 0.01$ ) ve Vit-E (3 mg/kg) grubu hariç diğer gruplara göre ( $p \leq 0.05$ ) düşük bulunmuştur.

g) Vit-E + Allopurinol uygulanan grupta doku MDA düzeyi *10.13 nmol/g* olarak tespit edilmiş olup kontrole göre düşük gösterdiği saptanmıştır ( $p < 0.05$ ).

### Tartışma

Serbest radikallerin organizmada bütün hücreleri etkileyerek birçok fizyolojik ve patolojik olayda önemli rol oynadığı bilinmektedir (1,2). Patojen mikroorganizmalar üzerine direkt etkileri ile ve proteolitik enzimleri aktive ederek indirekt etkileri ile patojenleri etkisiz hale getirmeleri serbest radikallerin organizma için yararlı etkilere sahip olduklarını göstermektedir (13,14). Öte yandan birçok hastalığın patogenezi de önemli bir rol oynadıkları gösterilmiştir (2). Egzersiz, açlık, kimyasal maddeler, soğuk ve hareketsizlik gibi bir çok stres

modelinin serbest radikal oluşumunu artırdığı ve bu radikallerin de lipit peroksidasyonunu uyardığı bilinmektedir (1-4). Gerek eksojen faktörler, gerekse endojen biyolojik olaylar sonucu oluşan serbest radikaller plazma ve dokudaki antioksidanlar tarafından temizlenmeye ve kontrol altında tutulmaya çalışılır (1,2).

Lipit peroksidasyonu esas olarak birçok reaktif oksijen türlerinin ( hidroksil radikal, hidrojen peroksit gibi) etkisiyle organizmada küçük miktarlarda doğal olarak oluşan bir işlemdir. Bu reaktif oksijen türleri membranın poli-doymamış yağ asitlerine saldırır ve bir dizi reaksiyonu başlatarak membran lipitlerinin tahribine neden olur. Lipit peroksidasyon reaksiyonlarının son ürünleri hücrelerin hatta dokuların canlılığı için tehlikelidir. Aynı zamanda bu ürünlerin tespiti serbest radikallere bağlı hasarın da önemli bir göstergesidir. Lipit peroksidasyonun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA); kalp, akciğer, böbrek, ince barsak ve mide gibi bir çok organda doku hasarının esas belirleyicisi olarak kabul edilmektedir (2,5,6,7,15).

Lipit peroksidasyonu; membran akışkanlığında azalma, membran fonksiyonlarında bozulma, membran reseptörlerinin ve enzimlerinin inaktivasyonu, membran permeabilitesindeki artış ve özellikle hücre içinde kalsiyum iyonu seviyelerinde artışa neden olarak hücrenin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini bozar (5-7).

Deneyisel bulgular karaciğer hastalıklarının patogenezi de serbest radikallerin ve oksidatif hasarın önemli bir rol oynadığını göstermektedir (1,2). Karaciğer; ilaçların, ksenobiyotiklerin ve oksidatif stresin toksisitesinde önemli bir hedefdir (16). İmmobilizasyon + soğuk stresinin karaciğerde; lipit peroksidasyonunda önemli bir artışa (17), antioksidan etkinliğe sahip maddelerde (E vitamini, C vitamini, glutatyon) (18-20) ve sitokrom P-450 enzimlerinde (21,22) belirgin bir azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir.

Deneyisel veriler eksojen olarak kullanılan bazı maddelerin immobilizasyon + soğuk stresine bağlı karaciğer lipit peroksidasyonunu azalttığını göstermektedir. Biz bu çalışmamızda, daha önceki bir çalışmamızın devamı olarak (23): Siçanlara

immobilizasyon + soğuk stres metodu uygulayarak karaciğer lipit peroksidasyonunun şiddetini ölçtük; ve antioksidan etkinliğe sahip olan E vitamini, Selenyum ve Allopurinolün tek başlarına ve/veya kombinasyonları halinde koruyucu etkilerinin bulunup bulunmadığını araştırdık.

Sanchez O. ve arkadaşları immobilizasyon ve soğuk gibi emosyonel değişimlere neden olan kısa süreli akut stresin farelerde bir çok organda hasarlanma oluşturduğunu saptamışlardır (24).

Bu çalışmada E vitamini (3 mg/kg/gün, 10 mg/kg/gün ve 100 mg/kg/gün), Selenyum, Allopurinol, E vitamini + Selenyum ve E vitamini + Allopurinol ilaç ön uygulamalarının kontrol yanıtlarına göre karaciğer MDA düzeylerini azalttığını tespit ettik. Daha önceki çalışmamızda da immobilizasyon + soğuk stresine maruz bırakılmış sıçanlarda benzer ilaç ön uygulamalarının mide MDA düzeylerini azalttığı gözlenmişti.

Bu çalışmada E vitamininin farklı dozlardaki (3 mg/kg/gün, 10 mg/kg/gün ve 100 mg/kg/gün) ön uygulamalarının karaciğer MDA düzeylerini; kontrol yanıtlarına göre düşürdüğü saptandı ve 3 mg/kg/gün şeklindeki doz uygulamasının 10 mg/kg/gün ve 100 mg/kg/gün uygulamalarından daha etkili olduğu gözlemlendi ( $p \leq 0.05$ ). Cadenas S. ve arkadaşları da kobaylarda yaptıkları bir çalışmada; oksidatif strese bağlı olarak karaciğerde artan lipit peroksidasyonu hasarına karşı diyet katılan farklı dozlardaki E vitaminin koruyucu etkinliğinin bulunduğunu tespit etmişlerdir (25). Aynı çalışmada yüksek dozlarda E vitamini uygulamanın oksidatif strese ilave bir koruma sağlamadığı da ifade edilmektedir. Bizim çalışmamızdaki 3 mg/kg/gün şeklindeki doz uygulamasının karaciğer MDA düzeylerini diğer doz (10 mg/kg/gün ve 100 mg/kg/gün) uygulamalarından daha fazla düşürmesi ilgi çekicidir.

Selenyum, antioksidan özelliği bilinen bir iyon olup, metabolik fonksiyonlar için gerekli bir elementtir. Selenyum hidroksil radikallerini detoksifiye eden bir enzim olan glutatyon peroksidaz (GSH-Px)'ın ko-faktörüdür. Bu enzimin fonksiyonel bir ögesi olarak enzimi aktif tutar ve yağ asitleri peroksitlerinin alkollere dönüşümünü katalize

ederek membranı oksidatif zedelenmeye karşı korur. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px); serum, plazma, eritrositler, trombositler, plasenta, GİS ve diğer dokularda bulunan bir enzimdir (26-28). Özellikle mitokondrideki GSH-Px düzeyleri hücrenin oksidatif hasardan korunmasında özel bir öneme sahiptir. Bu çalışmada da selenyum ve selenyum+E vitamini kombinasyonunun immobilizasyon+soğuk stresine karşı koruyucu etkinliğinin bulunduğunu gözledik.

Hücrel ve subselüler membranların oksidatif hasarının önlenmesinde E vitamini ve selenyum birbirlerini tamamlayıcı rol oynarlar. Bu çalışmada da Selenyum + E vitamini kombinasyonunun sıçanlarda immobilizasyon + soğuk stresine bağlı karaciğer lipit peroksidasyonunu diğer gruplardan daha fazla düşürmesi oksidatif hasara karşı sinerjistik bir etki oluşturduklarını düşündürmektedir.

Ksantin oksidaz serbest oksijen radikallerinin oluşumundan sorumlu bir enzimdir (29). Allopurinol ve onun metaboliti olan oksipurinol ksantin oksidaz enzimini inhibe ederek serbest radikallerin oluşumunu ve serbest radikallerin neden olduğu hasarı önlemektedir (30). Bu çalışmada da Allopurinol ve Allopurinol+E vitamini kombinasyonunun immobilizasyon+soğuk stresine karşı koruyucu etkisinin olduğu gözlemlendi. Bu etkisini muhtemelen ksantin oksidaza bağlı serbest oksijen radikallerinin oluşumunu inhibe ederek göstermektedir.

Sonuç olarak: Sıçanlarda immobilizasyon + soğuk stresi ile meydana gelen serbest radikallerle bağlı karaciğer hasarını önlemede; E vitamini, Selenyum ve Allopurinolün tek başlarına ya da kombinasyon şeklinde uygulanmalarının profilaktik olarak faydalı olabileceği kanısına varıldı.

#### KAYNAKLAR

1. Athar M, Abdulla M, Sultana S, Favier A an Pero R. Free radicals and trace elements. J Trace Elements Exp Med 1993; 6:65-73.
2. Oldham KM, Bowen PE. Oxidative stress in critical care: is antioxidant supplementation beneficial? J Am Diet Assoc 1998; 98 (9):1001-8.
3. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? Am J Clin Nutr 2000; 72(2):637-46.

4. al-Moutairy AR, Tariq M. Effect of vitamin E and selenium on hypothermic restraint stress and chemically-induced ulcers. *Dig Dis Sci* 1996; 41(6):1165-71.
5. Horton AA, Fairhurst S. Lipid peroxidation and mechanism of toxicity. *Crit Rev Toxicol* 1987; 18 (1): 27-66.
6. Gutteridge JMC, Hallwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological system. *Trends Biochem Sct* 1990; 15:129-35.
7. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease, free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47:412-26.
8. Bieri JG. Vitamin E. In: Brown ML, ed. Present knowledge in nutrition. Washington, DC: International Life Sciences Institute, 1990: 117-21.
9. Kayaalp SO. Vitaminler. In: Kayaalp SO, ed. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2. Cilt, 8. Baskı. Ankara, Feryal Matbaacılık San. Ve Tic. Ltd. Şti 1998; 1547-50.
10. Vilas NN, Bell RR and Drapes HH. Influence of dietary peroxides, Selenium and Vit-E on glutathione peroxides of the gastrointestinal tract. *J Nutr* 1976; 106: 589-96.
11. Karwinski W, Soreide O. Allopurinol improves scavenging ability of the liver after ischemia/reperfusion injury. *Liver* 1997; 17(3):139-43.
12. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med* 1990; 9:515-40.
13. Sardesai VM. Role of antioxidants in health maintenance. *Nutr Clin Pract* 1995; 10:19-25.
14. Baggolini M, Thelen M. The phagocytes and the respiratory burst. In: Sies H, ed. *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants*. San Diego, Calif: Academic Press; 1991:399-420.
15. Mylonas C, Kouretas D. Lipid Peroxidation and Tissue Damage. *In Vivo* 1999; 13(3):295-309.
16. Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pesseyre D, Lemasters JJ. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci* 2002; 65(2):166-76.
17. Kovacs P, Juranek I, Stankovicova T. Lipid peroxidation during acute stress. *Svec P Pharmazie* 1996; 51(1):51-3.
18. Cheeseman KH, Burton GW, Ingold KU, Slater TF. Lipid peroxidation and lipid antioxidants in normal and tumor cells. *Toxicol Pathol* 1984; 12(3):235-9.
19. Seckin S, Alptekin N, Dogru-Abbasoglu S, Kocak-Toker N, Toker G, Uysal M. The effect of chronic stress on hepatic and gastric lipid peroxidation in long-term depletion of glutathione in rats. *Pharmacol Res* 1997; 36(1):55-7.
20. Simmons HF, James RC, Harbison RD, Roberts SM. Depression of glutathione by cold-restraint in mice. *Toxicology* 1990; 61(1):59-71.
21. Nagyova A, Ginter E. Response of hepatic drug-metabolizing enzymes to immobilization stress in rats of various ages. *Acta Physiol Hung* 1993; 81:29-35.
22. Deev LI, Akhalaia Mia, Illarionova EA, Kudriashov IuB. Relation of changes in the content and activity of rat liver microsomal cytochrome P-450 to the intensification of lipid peroxidation under stress. *Biull Eksp Biol Med* 1983; 95(5):51-3.
23. Canoruç N, Çiçek R, Atamer A, Dursun M, Turgut C, Güneli E, Canoruç F. Protective effects of vitamin E, selenium and allopurinol against stress-induced ulcer formation in rats. *Tr J of Medical Sciences* 2001; 31:199-203.
24. Sanchez O, Arnau A, Pareja M, Poch E, Ramirez I, Soley M. Acute stress-induced tissue injury in mice: differences between emotional and social stress. *Cell Stress Chaperones* 2002; 7(1):36-46.
25. Cadenas S, Rojas C, Perez-Campo R, Lopez-Torres M, Barja G. Vitamin E protects guinea pig liver from lipid peroxidation without depressing levels of antioxidants. *Int J Biochem Cell Biol* 1995; 27(11):1175-81.
26. Richard MJ, Arnaud J, Jurkovicz C, Hachache T, Meftahi H, Laporte F, Faret M, Favier A, Cordonnier D. Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure. *Nephron* 1991; 57:10-15.
27. Champe PC and Harvey RA. *Biyokimya Lippincott's Illustrated Reviews* 1994; 10: 114.
28. Koistinaho J, Alho H and Hervonen A. Effect of Vit-E and selenium supplement on the aging peripheral neurons of the male Sprague-dawley rat. *Mechanism of Aging and Development* 1990; 51:63-72.
29. Joe M, McCard PHD. Oxygen-derived free radicals in ischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine* 1985; 312(3):156-63.
30. Dray-Lefaix MT, Drouet Y, Geraud G. Involvement of platelet-activating factor in rat ischemia reperfusion gastric damage. In: Braquet P, ed. *Ginkgolides-chemistry, Biology, Pharmacology and clinical perspectives*. Prous Science Publisher SA 1988: 563-73.

---

**Geliş Tarihi:** 16.07.2002

**Yazışma Adresi:** Dr.Ensari GÜNELİ  
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Farmakoloji AD, DİYARBAKIR  
mguneli@dicle.edu.tr