



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2010: 24 (2): 81 - 85
http://www.fusabil.org

Benzo(A)piren Uygulanan Ratlarda E Vitamini ve Selenyumun Kan ve Dokularda Lipit Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Koruyucu Etkileri *

Meltem KIZIL¹
Mehmet ÇAY²

¹Tarım İl Müdürlüğü,
İl Kontrol Laboratuvar
Müdürlüğü,
Elazığ, TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

Bu çalışmada, benzo(a)piren (BaP) verilen ratlarda E vitamini ve selenyumun kan ve dokularda lipit peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzimler üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla, 100 Wistar Albino türü dişi rattan beş grup oluşturuldu. Bu gruplar; 1. kontrol, 2. BaP, 3. BaP + E vitamini, 4. BaP + selenyum, 5. BaP + E vitamini + selenyum olarak ayrıldı. Çalışma bulgularına göre, BaP'in plazma ve karaciğer lipit peroksidasyonunu artırdığı, eritrosit ve karaciğerdeki antioksidan enzim düzeylerini azalttığı saptanmıştır. Diğer yandan E vitamini ve selenyum, plazma ve karaciğer MDA düzeylerini azaltırken, eritrosit ve karaciğer GSH, GSH-Px ve katalaz düzeylerini artırmıştır. Sonuç olarak, E vitamini ve selenyumun; BaP'in sebep olduğu antioksidan enzim düzeyleri ve lipit peroksidasyonu üzerindeki olumsuz etkilerini düzeltmede ve kanserojen etkinliğini önlemede yararlı olduğu belirlenmiş, özellikle her ikisinin birlikte kullanılmasının ise daha koruyucu olduğu gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Benzo (a) piren, E vitamini, Selenyum, Lipit peroksidasyon, Antioksidan enzimler.

Protective effects of Vitamin E and Selenium on Blood and Tissues Lipid Peroxidation and Some Antioxidant Enzyme Levels in Rats Exposed to Benzo(A)Pyrene

The effects of vitamin E and selenium on blood and tissues lipid peroxidation and some antioxidant enzymes levels in rats exposed to benzo(a)pyrene (BaP) was investigated. For this purpose, 100 Wistar Albino female rats were divided in 5 groups, as group 1 (Control), group 2 (BaP), group 3 (BaP + vitamin E), group 4 (BaP + selenium), and group 5 (BaP + vitamin E + selenium). The results of the present study showed that administration of BaP caused an increase in the levels of plasma and liver lipid peroxidation and a decrease in the levels of antioxidant enzymes in the erythrocyte and liver. On the other hand, the administration of vitamin E and selenium decreased the levels of plasma and liver MDA, while increasing the levels of erythrocyte and liver GSH, GSH-Px and catalase. As a result, vitamin E and selenium administrations were useful in preventing the negative effects of BaP on the lipid peroxidation, antioxidant enzymes and its carcinogenic effects. Furthermore, vitamin E combined with selenium was more effective.

Keywords: Benzo (a) pyrene, Vitamin E, Selenium, Lipid peroxidation, Antioxidant enzymes.

Giriş

Benzo(a)piren (3,4-benzopyrene, BaP) diyetle, çalışma ortamlarında, sigara dumanında ve çevrede yaygın olarak bulunan toksik etkili, immun sistemi baskılayıcı ve canlıların farklı dokularında güçlü kanser yapabilme yeteneğine sahip bir polisiklik aromatik hidrokarbondur (1).

Stres; organizmanın normal fizyolojisine ters olan çevresel, besinsel, toplumsal, patolojik ve fizyolojik değişikliklere karşı gösterdiği tepkileri kapsamaktadır. Stres altında bulunan organizmanın homeostatik dengesi bozulur ve organizma her türlü tehlikeye karşı dirençsiz kalır (2). BaP membran lipitleriyle reaksiyona girerek lipit peroksidasyonuna neden olur (3). Bu nedenle de kanserli dokularda lipit peroksidasyonunda önemli bir artış gözlenebilmektedir. BaP'in biyotransformasyonu süresince oluşan serbest radikaller, DNA'ya zarar verebilirler (4, 5). BaP uygulanan hayvanlarda, LPO sonucu MDA düzeylerinin önemli derecede arttığı (6) belirtilmiştir. MDA düzeylerinde gözlenen bu artışın, serbest radikal hasarına bağlı olarak ortaya çıktığı ifade edilmektedir (7).

BaP'in oluşturduğu serbest radikallerin bu toksik etkileri, hücrede birinci derecede önemli olan enzim sistemleri süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz (SOD, CAT, GSH-Px) ile ortadan kaldırılabılır (8). Bu enzimler serbest radikallerin birikmesini ve

* Bu çalışma, FÜBAP tarafından desteklenen "Benzo(A)piren Uygulanan Ratlarda E Vitamini ve Selenyumun Kan ve Dokularda Lipit Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Koruyucu Etkileri" isimli doktora tezinden özetlenmiştir.

Geliş Tarihi : 20.04.2009
Kabul Tarihi : 11.05.2010

Yazışma Adresi Correspondence

Meltem KIZIL
Tarım İl Müdürlüğü,
İl Kontrol Laboratuvar
Müdürlüğü,
Elazığ - TÜRKİYE

meltemkizil@hotmail.com

lipit peroksidasyonunun başlamasını önleyerek etkilerini gösterirler. Enzimsel savunma sisteminin yeterli olmadığı hallerde, düşük moleköl ağırlıklı serbest radikal tutucuları lipit radikalleri ile etkileşerek reaksiyonların ilerlemesini önlemeye çalışırlar. En önemli serbest radikal tutucuları arasında E vitamini, C vitamini ve glutatyon yer almaktadır (9-11).

E vitamininin en önemli fonksiyonu, biyolojik sistemlerde zincir kırıcı bir antioksidan olarak serbest radikal reaksiyonlarının yayılmasını önlemesi ve hücreleri lipit peroksidasyonuna karşı korumasıdır (4, 12-14). Etkisini, tümör gelişimine neden olan aktif kanserojen maddelerin DNA'ya bağlanmasını ve kromozomlarda oluşturduğu kötü etkileri inhibe ederek gösterir (15). Selenyum, vücudun en önemli antioksidan enzimi olan GSH-Px'in bir bileşeni olması nedeniyle, lipitlerin oksidasyonu sonucunda oluşan peroksidlerin yıkılmasında önemli rol oynar. Böylece, hücre zarlarının bütünlüğünün sağlanması ve korunmasında etkin fizyolojik bir görev üstlenir (16-18). Bu çalışmada, BaP verilen ratlarda E vitamini ve selenyumun kan ve dokularda lipit peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzimler üzerine etkileri araştırıldı..

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmanın materyalini, F.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilen, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 10-12 haftalık 100 adet dişi Wistar albino rat oluşturmuştur. Araştırma F.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yürütüldü. Ratlar çalışmaya başlamadan bir ay önce alınarak ortama adaptasyonları sağlandı. Ratlara yem ve su ad libitum olarak verildi. Yem olarak Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen rat yemi kullanıldı.

Araştırmada kullanılan dişi Wistar albino ratlar her grupta 20 adet rat olacak şekilde beş gruba ayrıldı. Birinci grup hariç diğer gruplarda bulunan ratlara tricapyrilin içinde çözündürülerek 10,08 mg dozunda BaP deri altı (DA) yolla tek doz uygulandı. Bu gruplar aşağıda belirtilmiştir.

1. Grup (Kontrol Grubu): Plasebo olarak intraperitoneal (İP) serum fizyolojik uygulandı.
2. Grup (BaP Grubu): BaP (10,08 mg, DA) uygulandı.
3. Grup (BaP + E vitamini grubu): BaP (10,08 mg, DA) enjeksiyonuna ilaveten ratlara gün aşırı E vitamini (100 mg/kg, İP) uygulandı.
4. Grup (BaP + Selenyum grubu): BaP (10,08 mg, DA) uygulamasına ilaveten ratlara gün aşırı selenyum (0,8 mg/kg, İP) verildi.
5. Grup (BaP + Selenyum + E vitamini grubu): BaP (10,08 mg, DA) enjeksiyonuna ilaveten ratlara gün aşırı vitamini (100 mg/kg, İP) ve selenyum (0,8 mg/kg, İP) eş zamanlı uygulandı.

Uygulamalar tüm gruplar için 12 hafta süre ile devam etmiştir.

12 hafta sonunda bir gece öncesinden yemleri alınan ratların 12 saatlik açlık periyodundan sonra kan örnekleri, eter anestezisini takiben median laparotomi sonrasında kalpten punksiyon ile alındı. EDTA'lı tüplere alınan kanların bir kısmı MDA tayini için 3000 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifüj edilerek plazma ve eritrositler elde edildi. Eritrositler üç kez serum fizyolojik ile yıkanarak RBC eritrositleri hazırlandı. Plazma ve eritrositler, diğer analizler için -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Plazma ve dokuda lipit peroksidasyonu (MDA) Placer ve ark. (19)'nın tanımladığı yöntemle spektrofotometrik olarak belirlendi. Eritrosit ve dokuda GSH-Px aktivitesi düzeyi Lawrence ve ark. (20)'nin belirttiği şekilde ve GSH düzeyi Sedlak ve Lindsay (21)'in belirttiği şekilde yapılmıştır. Eritrosit katalaz (CAT) enzim tayininde Goth (22) metodu, doku katalaz enzim aktivitesinin tayininde ise Aebi (23)'nin tanımladığı yöntem kullanıldı.

Ratlardan alınan karaciğerler bekletilmeden serum fizyolojik ile yıkanarak dokuların kandan temizlenmeleri sağlandı. Doku örnekleri ile ilgili çalışmalar yapılmaya kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Alınan karaciğer örneklerinde MDA, GSH, GSH-Px, CAT tayini yapıldı.

İstatistiksel analizler SPSS 11.5 paket programı kullanılarak yapıldı. Araştırma sonucunda elde edilen veriler ortalama \pm SE olarak gösterildi. Plazma MDA, eritrosit GSH, GSH-Px, CAT, karaciğer MDA, GSH, GSH-Px, CAT düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırmalarında varyans analizi (One-Way Anova) yapıldı. Gruplar arasında fark bulunduğunda ise farklılığın hangi gruptan kaynaklandığı Tukey testi ile incelendi. Anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

Bulgular

Çalışmada uygulama yapılan tüm gruplardaki ratlara ait plazma ve doku antioksidan enzimleri ve LPO düzeyleri ile gruplar arasındaki bu değerlere ilişkin istatistiksel önem dereceleri Tablo 1'de toplu olarak sunulmuştur. Bu tablo incelendiğinde;

Plazma MDA Düzeyleri: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta MDA düzeylerinin anlamlı olarak arttığı ($p < 0.001$) belirlendi. 2. grupta kıyaslandığında, 3. ($p < 0.01$), 4. ($p < 0.001$) ve 5. ($p < 0.001$) grupların MDA seviyelerinde önemli bir azalma gözlemlendi. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında 5. grupta istatistiksel bir önem belirlenmemiştir.

Karaciğer MDA Düzeyleri: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta MDA düzeylerinde anlamlı bir artış ($p < 0.001$) gözlemlendi. 2. grupta kıyaslandığında 3. ve 5. grupta MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p < 0.001$) belirlendi. 3. grupta kıyaslandığında 5. grupta arasında önemli bir değişim gözlemlenmedi. 4. grupta kıyaslandığında 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p < 0.001$) belirlendi.

Eritrosit GSH Düzeyleri: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta eritrosit GSH düzeylerinin

anlamli ($p<0.001$) olarak azaldığı belirlendi. 2. grupta kıyaslandığında 3. ($p<0.001$), 4. ($p<0.05$) ve 5. grupta ($p<0.01$) önemli bir artış belirlendi. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında 5. grupta istatistiksel olarak önem gözlenmedi.

Karaciğer GSH Düzeyleri: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta GSH düzeylerinin anlamli olarak azaldığı ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupta kıyaslandığında 3. ($p<0.01$), 4. ($p<0.001$) ve 5. gruplarda ($p<0.001$) önemli bir artış belirlendi. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında, 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir değişim tespit edilmedi.

Eritrosit GSH-Px Düzeyleri: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta eritrosit GSH-Px düzeylerinin anlamli olarak azaldığı ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupta kıyaslandığında 3, 4 ve 5. grupta eritrosit GSH-Px düzeylerinde önemli bir artış ($p<0.001$) gözlemlendi. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında, 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmedi.

Karaciğer GSH-Px Düzeyleri: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta GSH-Px düzeylerinin anlamli olarak azaldığı ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupta

kıyaslandığında 3. ve 5. grupta GSH-Px düzeylerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.001$) bir artış gözlemlendi. 3. grupta kıyaslandığında 5. grupta herhangi bir değişim gözlenmedi. 4. grupta kıyaslandığında 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir artış ($p<0.05$) belirlendi.

Eritrosit CAT Düzeyleri: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta eritrosit katalaz düzeylerinin anlamli olarak azaldığı ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupta kıyaslandığında 3 grupta önemli ($p<0.05$) bir artış saptanırken, 4 ve 5. gruplarda eritrosit katalaz düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim belirlenmedi. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında, 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmedi.

Karaciğer CAT Düzeyleri: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta katalaz düzeylerinde önemli bir azalma ($p<0.001$) belirlendi. 2. grupta kıyaslandığında 3. grupta katalaz düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artış ($p<0.001$) görüldü. 4. grupta önemli bir değişiklik belirlenmedi. 5. grupta katalaz düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artış ($p<0.05$) gözlemlendi. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında, 5. grupta istatistiksel olarak önemli bir değişim belirlenmedi.

Tablo 1. Tüm gruplarda plazma ve dokuda düzeyleri belirlenen antioksidan enzimler ve LPO sonuçları (Mean \pm SE).

	Kontrol	BaP	BaP + E	BaP + Se	BaP + E + Se
Plazma MDA (nmol/ml)	1,38 \pm 0,04	2,18 \pm 0,08 ^a	1,81 \pm 0,02 ^{**}	1,64 \pm 0,05 ^{***}	1,55 \pm 0,11 ^{***}
Eritrosit GSH (nmol/ml)	2,94 \pm 0,16	1,81 \pm 0,02 ^a	2,35 \pm 0,07 ^{***}	2,16 \pm 0,06 [*]	2,21 \pm 0,1 ^{**}
Eritrosit GSHPX (IU/ g protein)	81,99 \pm 7,4	22,67 \pm 1,62 ^a	75,25 \pm 4,49 ^{***}	53,47 \pm 4,64 ^{***}	63,6 \pm 5,73 ^{***}
Eritrosit CAT (KU/ g protein)	12,3 \pm 0,82	6,5 \pm 0,31 ^a	8,75 \pm 0,51 [*]	7,12 \pm 0,51	7,03 \pm 0,43
KC MDA (nmol/ml)	9,69 \pm 0,29	22,21 \pm 0,76 ^a	12,58 \pm 0,46 ^{***}	19,7 \pm 1,07	11,5 \pm 0,62 ^{***y}
KC GSH (nmol/ml)	3,86 \pm 0,17	1,80 \pm 0,01 ^a	2,28 \pm 0,11 ^{**}	2,41 \pm 0,04 ^{***}	2,39 \pm 0,12 ^{***}
KC GSHPX (IU/ g protein)	29,51 \pm 1,51	14,12 \pm 0,27 ^a	21,13 \pm 1,21 ^{***}	17,01 \pm 0,87	21,3 \pm 1,04 ^{***x}
KC CAT (K/ mg protein)	0,23 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02 ^a	0,22 \pm 0,01 ^{***}	0,17 \pm 0,09	0,19 \pm 0,01 [*]

a = kontrol ile kıyaslandığında önemli; a= $p<0.001$.

*, **, *** = BaP ile kıyaslandığında önemli; *= $p<0.05$, ** = $p<0.01$, *** = $p<0.001$.

x, y = BAP + Se ile kıyaslandığında önemli; x= $p<0.05$, y= $p<0.001$

Tartışma

Biyolojik sistemlerde hücreler normal şartlar altında birçok stres faktörüne maruz kalmakta ve organizma da bu olumsuz etkilere karşı koymak zorundadır. Son yıllarda kanser oluşumu ile organizmanın oksidan-antioksidan denge durumu arasında sıkı bir etkileşim olduğu ve kanser olaylarında organizmada oksidatif stresin ve serbest radikallerin arttığını gösteren çeşitli çalışmalar yayınlanmıştır (24-29).

Güçlü kanserojen etkiye sahip olan BaP'nin uygulandığı ratlarda, E vitamini ve selenyumun koruyucu etkinliğini araştırmak amacıyla yapılan bu çalışmada, kan ve dokularda lipit peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim düzeylerinde önemli sayılabilecek bulgular elde edilmiştir.

Çalışmada tüm gruplara ait plazma ve karaciğer MDA düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla BaP uygulanan 2. grupta hem plazma ($p<0.001$) hem de karaciğer ($p<0.001$) MDA düzeylerinin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. MDA düzeylerindeki artışlar, BaP'in oksidatif etkinliği sonucu organizmada üretilen peroksit miktarı ile peroksitleri temizleyen enzim sistemleri arasındaki yetersizliğe bağlı olabilir. BAP uygulanarak yapılan bir çalışmada (30), fare eritrositlerinde MDA düzeylerinin oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir. Sadece BaP uygulanan 2. grup ile 3. 4. ve 5. gruplar kıyaslandığında, hem plazma hem de karaciğer MDA düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir. Plazma MDA düzeyleri bakımından 2. grupta kıyaslandığında, 3. ($p<0.01$), 4. ($p<0.001$) ve 5. ($p<0.001$) gruplarda önemli azalmalar gözlenmiştir. Üçüncü ve 4. grupta

kıyaslandığında 5. grupta istatistiksel bir önem belirlenmemiştir. Karaciğer MDA düzeylerinde, 2. grup ile kıyaslandığında 3. ve 5. grupta önemli ($p<0.001$) bir azalma belirlenirken, 4. grupta istatistiksel bir önem gözlenmemiştir. 4. grup ile kıyaslandığında, 5. grupta karaciğer MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.001$) azalma saptanmıştır.

Çalışmada tüm gruplara ait plazma ve karaciğer GSH düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuyla kıyaslandığında 2. grupta GSH düzeylerinin önemli derecede azaldığı ($p<0.001$) tespit edilmiştir. 2. grup ile kıyaslandığında; eritrosit GSH düzeylerindeki artışların 3. ($p<0.001$), 4. ($p<0.05$) ve 5. ($p<0.01$) gruplarda önemli olduğu saptanmıştır. Karaciğer GSH düzeylerinde 3. ($p<0.01$), 4. ve 5. gruplarda ($p<0.001$) önemli bir artış gözlenmiştir. İkinci grupta kıyaslandığında, 3. 4. ve 5. gruplarda saptanan plazma ve karaciğer GSH düzeylerindeki artışların 3. grupta E vitamini, 4. grupta selenyum, 5. grupta E vitamini + selenyumun güçlü antioksidan etkisine bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında; eritrosit ve karaciğer GSH düzeylerinde 5. grupta istatistiksel önem saptanmamıştır. BaP'in oksidan etkinliğine karşı, eritrosit GSH düzeylerinin düzeltilmesinde özellikle E vitamini, karaciğer GSH düzeylerinin düzeltilmesinde ise özellikle selenyum etkili olduğu saptanmıştır.

Çalışmada tüm gruplara ait plazma ve karaciğer GSH-Px düzeyleri incelendiğinde kontrol grubuyla kıyaslandığında 2. grupta GSH-Px düzeylerinin önemli derecede azaldığı ($p<0.001$) tespit edilmiştir. 2. grup ile kıyaslandığında; 3. 4. ve 5. gruplarda eritrosit GSH-Px

düzeylerinde önemli ($p<0.001$) bir artış belirlenmiştir. 3. ve 5. grupta karaciğer GSH-Px düzeylerinde 2. gruba nazaran önemli artışlar ($p<0.001$) belirlenirken, 4. grupta istatistiksel bir önem saptanmamıştır. Eritrosit GSH-Px düzeyleri bakımından 3. ve 4. grupta kıyaslandığında; 5. grupta istatistiksel önem saptanmazken, karaciğer GSH-Px düzeylerinde 4. grupta kıyaslandığında 5. grupta önemli ($p<0.05$) bir artış gözlenmiştir. Kanseri ratlar üzerinde yapılan değişik çalışmalarda (31) karaciğer dokusunda GSH-Px aktiviteleri azalmış olarak belirlenmiştir.

Çalışmada tüm gruplara ait eritrosit ve karaciğer CAT düzeyleri incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla 2. grupta önemli derecede azaldığı ($p<0.001$) tespit edilmiştir. 2. grup ile kıyaslandığında, sadece 3. grupta eritrosit CAT düzeyleri bakımından önemli ($p<0.05$) bir artış gözlenmiştir. Karaciğer CAT düzeylerinde 2. grup ile kıyaslandığında, 3. grupta ($p<0.001$), 5. grupta ($p<0.05$) önemli bir artış gözlenirken, 4. grupta istatistiksel bir önem saptanmamıştır. 3. ve 4. grupta kıyaslandığında; hem plazma hem de karaciğer CAT düzeylerinde 5. grupta istatistiksel bir önem belirlenmemiştir. Kontrollerle kıyaslandığında kanserli hastaların CAT düzeylerinin (32) düşük olduğu bildirilmiştir.

Sonuç olarak, E vitamini ve selenyumun; BaP'in sebep olduğu antioksidan enzim düzeyleri ve lipid peroksidasyonu üzerindeki olumsuz etkilerini düzeltmede ve kanserojen etkinliğini önlemede yararlı olduğu belirlenmiş, özellikle her ikisinin birlikte kullanılmasının ise daha koruyucu olduğu gözlenmiştir.

Kaynaklar

1. Rames A, Inyoung F, Hood DB, et al. Methabolism, bioavailability, and toxicokinetics of benzo(a)pyrene in F-344 rats following oral administration. *Exp Toxicol Pathol* 2001; 53: 275-290.
2. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Med Rev* 1996; 27: 41-50.
3. Badary OA, AbdEl-Gavad HM, Taha RA, Ali AA, Hamada FMA. Effects of benzo(a)pyrene on tissue activities of methabolising enzymes and antioxidant systeme in normal and protein-malnourished rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17 (2): 86-91.
4. Evangelou A, Kalpouzos G, Karkabounas S, Liasko R, Nonni A, Stefanou D, Kallistratos G. Dose-related preventive and therapeutic effects of antioxidants-anticarcinogens on experimentally induced malignant tumors in Wistar rats. *Cancer Lett* 1997; 115: 105-111.
5. Lee BM, Lee SK, Kim HS. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OhdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, β -carotene and red ginseng). *Cancer Lett* 1998; 132: 219-227
6. Das UN. Effect of anti-oxidants, free radical quenchers and siklo oxigenase inhibitor on benzo(a)pyrene-induced suppression of human lymphocyte mitogenesis in vitro. *Med Sci Monit* 2002; 8 (6): 205-207.
7. Lowy DF, Base R, Simo AA. Evidence for a high free radical state in low-grade astrocytomas. *Neurosurgery* 1997; 41: 146-150.
8. Boutin A.C., Shirali P., Garçon G. Gosset P at al.. Peripheral markers (clara cell protein and α -glutathione S-Transferase) and lipidperoxidation (Malondialdehyde) assesment in sprague-dawley rats instilled with haematite and benzo(a)pyrene. *J App Toxicol* 1998; 18(1): 39-45
9. David W, Martin JR, Peter AM, Victor WR, Daryl K G. Harper's Review of Biochemistry. Twentieth Edition, 1988.
10. Dündar Y, Aslan R. Bir antioksidan olarak vitamin E, Genel Tıp Derg 1999; 3(9): 109-116.
11. Morrissey PA, O'Brien NM. Dietary antioxidants in health and disease. *Int Dairy J* 1988; (8): 463-472.
12. Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. Vitamin E: protective role of a Janus molecule. *Faseb J* 2001; 15: 2314-2325.
13. Ulrey DE. Vitamine E for swine. *J Anim Sci* 1981; 53(4): 1039-1055.
14. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stres-induced cancer. *Chem-Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
15. Putnam ME, Comben N. Vitamin E (review article). *Vet Rec* 1987; 5: 541-545.
16. Combs GF and Combs SB. The Role of Selenium in Nutrition. London: Academic press. Inc. Ltd. 1986.
17. Raymond JS. Selenium metabolism and function. *J Anim Sci* 1986; 4: 42-49.

18. Sies H, Stahl W and Sundquist AR. Antioxidant Functions of Vitamins. *Annals New York Academy of Sciences*, 1982; 669: 7-15.
19. Placer AZ, Linda LC, Johnson B. Estamination of Product of Lipid Peroxidation (Malonyl Dialdehyde) in Biochemical Systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
20. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71 (4): 952-958.
21. Sedlak J, Lindsay RHC. Estimation of Total Protein Bound And Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue With Ellmann's Reagent. *Anal Biochem* 1968; 25: 192-205.
22. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 1991; 196: 143-152
23. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer U (Editor). *Methods of enzymatic analysis*. New York and London: Academic Press, 1974.
24. Gsandhya D, Prasad MH and et al. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Clin Chim Acta* 2000; 93: 53-62.
25. Huang Y, Sheu J, Lin T. Association between oxidative stress and changes of trace elements in patients with breast cancer. *Clin Biochem* 1999; 32(2): 131-136.
26. Jaund AF. Role of free radicals in cancer development. *Eur J Cancer* 1996; 32: 30-38.
27. Kehrer JP., Smith CV. Free radicals in biology: sources, reactivities and roles in the etiology of human disease. In: FREI B. (Ed). *Natural antioxidants in human health and disease*. San Diego: Academic Pres, 1994
28. Knight JA. Disease related to oxygen-derived free radicals. *Ann Clin Lab Sci* 1995; 25: 111-121.
29. Nikiforova NV, Khodyreva LA, Kipatovskii V I and et. al. Lipid peroxidation malignant tumors of human kidneys. *Bulletin of Experiment Biol Med* 2001; 132 (5): 1096-1099.
30. Lee BM, Lee SK, Kim HS. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OhdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, β -carotene and red ginseng). *Cancer Lett* 1998; 132: 219-227
31. Selvendiran K, Singh JPV, Krishnan KB, Sakthisekaran D. Cytoprotective effect of piperine against benzo(a)pyrene induced lung cancer with reference to lipid peroxidation and antioxidant system in swiss albino mice. *Fitoterapia* 2003; 74: 109-115.
32. Yarıktaş M, Döner F, Doğru H, Aynalı G, Yönden Z, Delibaş N. Baş boyun malign tümörlerinde malondialdehid düzeyleri ve antioxidan enzim aktiviteleri. *SDÜ Tıp Fak Derg* 2003; 10(4): 65-67.