



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.
2009; 23 (2): 77 - 80
http://www.fusabil.org

Sıçanlarda Isırgan Otu (*Urtica dioica* L.) Yaprığı ile Beslenmenin Akut Karbon Tetraklorür Uygulamasına Bağlı Gelişen Karaciğer Hasarı Üzerine Koruyucu Etkisi

Bahar GÖKER
Ruhsar ÖZMEN

Marmara Üniversitesi,
Eczacılık Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
İstanbul, TÜRKİYE

Çalışmamızda, kuru ısırgan otu yaprağının, sıçanlarda karbon tetraklorür ile uyarılan lipid peroksidasyonu üzerine inhibe edici etkisi araştırıldı.

Deney grupları; kontrol (grup 1), kontrol+karbon tetraklorür (grup 2) ve ısırgan otu+karbon tetraklorür (grup 3) şeklinde oluşturuldu. Grup 3 teki sıçanlar iki ay süresince kuru ısırgan otu yaprağı karıştırılmış yem ile beslendiler. Diğer gruptaki sıçanlar normal diyet aldılar. Bu süre sonunda 2. ve 3. gruptaki sıçanlara tek doz [(1ml/kg) intraperitoneal (i.p.)] CCl₄ enjekte edildi. Kontrol grubuna ise yine aynı hacimde zeytinyağı intraperitoneal olarak uygulandı. Uygulamadan iki saat sonra hayvanlardan alınan kan örneklerinde plazma ALT ve AST enzim düzeyleriyle plazma lipid peroksit düzeyleri, karaciğerlerinde ise lipid peroksit düzeyleri ve glutatyon düzeyleri belirlendi.

Kontrol+karbon tetraklorür sıçanlarının (grup 2) plazma ALT ve AST enzim düzeyleri, ısırgan otu+karbon tetraklorür sıçanları (grup 3) ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulundu. Bu iki grubun plazma lipid peroksit düzeyleri arasında ise istatistiksel anlamda bir fark bulunmadığı gözlemlendi. Diğer taraftan; yine bu iki grupta ölçülen karaciğer glutatyon ve karaciğer lipid peroksit düzeyleri kıyaslandığında, ısırgan otu+karbon tetraklorür grubu sıçanlarında (grup 3) bulunan değerlerin kontrol+karbon tetraklorür (grup2) sıçanlarındakilere kıyasla anlamlı bir azalma gösterdiği belirlendi.

Isırgan otu yaprağının lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisi bulunduğundan antioksidan etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler. Lipid peroksidasyonu, antioksidan, *Urtica dioica* L.

The Protective Effect of Stinging Needle (*Urtica dioica* L.) Leaf Based Diet on Liver Damage Caused by Acute Carbon Tetrachloride Exposure in Rats

In this report, inhibition effect of dry *Urtica dioica* L. leaves on stimulated lipid peroxidation with carbon tetrachloride in rats was studied..

Animales, with a total of twenty three, were examined in 3 groups; control (group 1), control+ carbon tetrachloride (group 2) and *Urtica dioica* L. + carbon tetrachloride (group 3). Rats in study group 3 were fed with dry *Urtica dioica* L. leaves. The rats in other groups were fed with normal diet. At the end of this period, one dose of CCl₄ (1ml/kg) was administered intraperitoneally to the rats in group 2. and 3. In control group, equal volume of olive oil was injected intraperitoneally to the rats. The plasma level of lipid peroxidase, ALT and AST enzymes, lipid peroxidase and glutathione levels in liver tissue were measured.

The plasma level of ALT and AST of rats in control+carbon tetrachloride group (group 2) was significantly higher compared to ones in *Urtica dioica* L.+carbon tetrachloride group (group 3). No significant difference in peroxide level was found among these groups. On the other hand, remarkable decrease was observed in the liver glutathione and lipid peroxide levels of rats in *Urtica dioica* L. + carbon tetrachloride group (group 3) compared to ones in control+ carbon tetrachloride group (group 2).

It was concluded that due to its inhibition effect on lipid peroxidation, *Urtica Dioica* L. has antioxidant properties.

Key Words: Lipid peroxidation, antioxidation, *Urtica Dioica* L.

Geliş Tarihi : 22.01.2009
Kabul Tarihi : 16.05.2009

Yazışma Adresi Correspondence

Bahar GÖKER
Marmara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı,
İstanbul-TÜRKİYE

bgoker@marmara.edu.tr

Giriş

Lipid peroksidasyonu, zar fosfolipidlerindeki çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olması sonucunda zarların lipid yapısını değiştirerek hücrelerin özelliklerini ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır (1-4). Bu olaya neden olan serbest oksijen radikalleri normal metabolizmanın ürünü olarak oluşabildikleri gibi; organizmanın, iyonize radyasyona, oksitleyici ajanlara ve yabancı maddelere maruz kaldığı durumlarda da ortaya çıkabilirler (3, 5-11). Ancak organizmamız, bu oksidatif hasara karşı koruyucu mekanizmalara sahiptir. Antioksidanlar denilen bu savunma sistemleri, serbest radikal ve metabolitlerinin blokörleri olarak görev yaparlar (12).

Antioksidanlar, enzimler ve serbest radikal tutucuları olarak iki grupta toplanırlar. Sistemde en fazla etkili olanlar enzimlerdir ki; bunların aktivitesi, serbest radikallerin sentez ve yıkılma hızının yanı sıra beslenme ile alınan eser elementlerin (Mn, Se, Cu, Zn, Fe) varlığına da bağlıdır (13, 14). Non-enzimatik yapıdaki diğer antioksidan grup ise, sıvı ve lipid fazda bulunan maddeler ve vitaminlerdir (6). Ancak; mineral içeren enzimlerin vücutta sentezlenebilmesine karşılık, non-enzimatik yapıdaki antioksidanların diyet ile alınması gerekmektedir.

Karbon tetraklorür, deneysel karaciğer harabiyeti oluşturulmasında en sık kullanılan kimyasal maddelerden birisidir (15-17). Harabiyete bağlı olarak, membranlarda lipid peroksidasyonu sürecini başlatarak serbest radikallerin oluşumunu hızlandırmaktadır (17-19). Bu çalışmada; ısırğan otu yaprağının, karbon tetraklorürün neden olduğu sıçan karaciğeri harabiyeti sonucunda oluşan lipid peroksidasyonu üzerindeki inhibe edici etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada 23 adet 200-220 g ağırlığında Wistar albino dişi sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar 3 gruba ayrıldı. 1. gruptaki (kontrol grubu) ve 2. gruptaki (kontrol +karbon tetraklorür grubu) sıçanlar 2 ay süre ile normal bazal yemle beslendi. Su ihtiyaçları günlük olarak karşılandı. 3. gruba (ısırğan otu yaprağı+karbon tetraklorür grubu) ise yine aynı beslenme süresince %15 oranında kuru ısırğan otu yaprağı karıştırılmış yem verildi. Isırğan otu yaprağı Marmara Bölgesi Balıkesir yöresinden toplanarak kurutulmuş şekilde kullanıldı.

İki aylık beslenme süreleri sonunda 16-18 saat aç bırakılan sıçanlardan kontrol grubuna tek doz (1 ml/kg) zeytinyağı, 2. gruba ve 3. gruba ise yine aynı hacimde tek doz (1ml/kg) karbon tetraklorürün zeytinyağındaki %20 lik çözeltisi intraperitoneal olarak uygulandı. İki saat sonra kalplerinden alınan kan örnekleri santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazmalar +4°C de saklandı. Plazma ALT (alanin aminotransferaz) ve AST (aspartat

aminotransferaz) enzim düzeyleri otoanalizör ile (U 240 plus, TECTRAN Instruments Co. Tokyo/ JAPAN) ve plazma lipid peroksit düzeyi TBA metodu (tiyobarbitürik asit metodu) ile belirlendi (20). Sıçanların hızla çıkarılan karaciğerlerinde, yine bu metod yöntemindeki amaca uygun olarak lipid peroksit düzeyleri belirlendi (8). Bunun yanı sıra, karaciğerde glutatyon düzeyinin belirlenmesi için yapılan çalışmada Elman (21) metodu uygulandı.

Sonuçların istatistiksel analizleri hazır paket program (SPSS) kullanılarak yapılmıştır. Kontrol grubu ve ot grubu sıçanlarına CCl₄ uygulamadan önce ve uygulanmasını takiben, tespit edilmiş olan lipid peroksit, glutatyon, ALT ve AST düzeylerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon W testi; CCl₄ uygulamasına maruz bırakılmış olan kontrol grubuyla, yine CCl₄ uygulamasına maruz bırakılmış olan ot grubu sıçanlarının lipid peroksit, glutatyon, ALT ve AST düzeylerinin karşılaştırılmasında ise "Mann- Whitney U "testi kullanılmıştır.

Çalışmamızla ilgili olarak Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 28.02.2001 tarih ve 2.2001.mar numarası ile onay alınmıştır.

Bulgular

Plazmada yapılan incelemelerden elde edilen bulgular: Karbon tetraklorür uygulamasından sonra 2. deney grubunun plazma ALT ve AST enzim düzeyleri, kontrol grubu sıçanlarına göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p< 0.05). 3. deney grubunun plazma ALT ve AST enzim düzeylerinde, 2. deney grubuna göre anlamlı şekilde azalma görülmüştür (sırası ile; p < 0.05, p< 0.01). Ancak bulunan bu değerler kontrol grubu düzeyinin üzerinde kalmıştır (Tablo 1).

Karbon tetraklorür uygulamasından sonra 2. deney grubunun plazma lipid peroksit düzeyleri kontrol grubundakilere göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p< 0.05) yine 2. deney grubunun plazma lipid peroksit düzeyleri, 3. deney grubunun plazma lipid peroksit düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (Tablo 1).

Tablo 1. Kontrol grubu (grup 1) ve karbon+tetraklorür uygulanan grupların (grup 2 ve grup 3) plazma ALT, AST ve plazma lipid peroksit düzeyleri.

	Kontrol grubu (grup 1; n:7)	Kontrol + CCl ₄ grubu (grup 2; n:8)	Ot + CCl ₄ grubu (grup 3; n:8)
Plazma ALT (IU/L)	20.60 ± 6.65	57.71 ± 10.64 ^b	41.00 ± 11.25 ^{bd}
Plazma AST (IU/L)	63.00 ± 26.60	249.28 ± 67.91 ^b	128.28 ± 13.11 ^{bc}
Plazma Lipid Peroksit (nmol MDA/ml plazma)	4.18 ± 0.89	5.38 ± 0.89 ^b	5.20 ± 0.92 ^a

Kontrol grubuna göre karşılaştırma: ^a p < 0.01, ^b p < 0.05

Kontrol + CCl₄ grubuna göre karşılaştırma: ^c p < 0.01, ^d p < 0.05

Karaciğerde yapılan incelemelerden elde edilen bulgular: Karbon tetraklorür uygulamasından sonra 2. deney grubunun karaciğer lipid peroksit düzeyleri, kontrol grubu (grup 1) ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p<0.05). 3. deney grubunun karaciğer lipid peroksit değerleri, 2. deney grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür

(p<0.01). Bu azalma kontrol grubu sıçanları (grup 1) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 2).

Karbon tetraklorür uygulamasından sonra, 2. deney grubunun karaciğer glutatyon düzeyleri kontrol grubu (grup 1) ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde yüksek

bulunmuştur ($p < 0.05$). 3. deney grubunun karaciğer glutatyon seviyeleri, 2. deney grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür

($p < 0.01$). Bu azalma kontrol grubu (grup 1) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Kontrol grubu (grup 1) ve karbon tetraklorür uygulanan gruplardaki (grup 2 ve grup 3) sıçanlarda karaciğer lipid peroksit ve glutatyon seviyeleri.

	Kontrol grubu (grup 1, n:7)	Kontrol+ CCl ₄ grubu (grup 2, n: 8)	Ot+ CCl ₄ grubu (grup 3, n: 8)
Karaciğer Lipid Peroksit (nmol/g doku)	211.04 ± 28.44	361.40 ± 62.89 ^a	246.88 ± 15.26 ^b
Karaciğer Glutatyon (µmol/g doku)	4.41 ± 0.79	7.47 ± 1.06 ^a	5.38 ± 1.35 ^b

Kontrol grubuna göre karşılaştırma: ^a $p < 0,05$

Kontrol + CCl₄ grubuna göre karşılaştırma ^b $p < 0.01$

Tartışma

Deneyel karaciğer harabiyeti oluşturulmasında sıklıkla kullanılan kimyasal maddelerin başında karbon tetraklorür gelmektedir (11, 15, 17, 22). Oksijen radikalleri, nükleik asitler, proteinler, lipidler ve karbonhidratları hasara uğratabilme kapasitesindedirler. Deneyel amaçlı kullanılan bu farklı maddelerin en fazla etkilediği organın karaciğer olması nedeniyle, harabiyet derecesi de plazmadaki karaciğer enzimlerinin fazlalaşan miktarları ile paralellik göstermektedir (4, 9, 10, 19, 22-24). Bu nedenle serum ve plazmadaki bazı enzim aktivitelerindeki değişiklikler, karaciğer hücre hasarının birer göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu enzimler arasında amino transferazlar (ALT ve AST) da vardır. Bu enzim aktivitelerindeki artış, aktif karaciğer hasarını yansıtmaktadır (17, 19).

Bizim çalışmamızda da literatürde yer alan diğer çalışmalar gibi karbon tetraklorürün sıçan karaciğer hücrelerinde harabiyet oluşturması nedeniyle plazma ALT ve AST enzim düzeylerinde yükselmeler meydana gelmiştir (17, 19, 23, 24). Bunun yanı sıra plazma lipid peroksit düzeylerindeki anlamlı artış, karaciğer harabiyeti sonucunda oluşan lipid peroksidasyonunun plazmaya yansıdığını gösteren diğer çalışmalar ile de aynı yöndedir (22). Yine aynı şekilde, karaciğer lipid peroksit düzeylerinde görülen yükselmeler karbon tetraklorürün, karaciğerde lipid peroksidasyonuna neden olduğunu doğrulayan diğer araştırma sonuçlarına da uymaktadır (18, 23, 25, 26).

Karbon tetraklorür uygulanan sıçanların karaciğer glutatyon düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla %70 oranında bir artış gözlenmiştir. Karaciğer harabiyetine bağlı olarak yükselen glutatyon seviyesi diğer çalışmalar ile de uygunluk göstermektedir (27, 28). Antioksidanlar, serbest radikallere karşı kendilerini okside etmek suretiyle hücredeki hasarı inhibe eden veya geciktiren maddelerdir (29, 30). Bilindiği gibi glutatyon organizmanın tüm hücrelerinde bulunan ve aralarında CCl₄ de olduğu bazı ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda önemli görevler üstlenen temel bir bileşiktir. Hücre içi glutatyon düzeyleri; glutatyon sentezinin kontrolü, hücre dışına taşınması, redoks olayları ve detoksifikasyon işlemlerine katılımı ile düzenlenir (31, 32).

Bu açıdan bakıldığında, CCl₄ ün karaciğerdeki glutatyon seviyeleri üzerinde neden olduğu artış sonuçlarımıza uymaktadır. Bu çalışmada, ısırgan otunun karbontetraklorür uygulanan sıçanlarda karaciğer hasarı nedeni ile yükselen plazma ALT ve AST enzim düzeyleri üzerinde sağladığı azalma ve bunun yanı sıra karaciğer lipid peroksit ve glutatyon düzeylerinde oluşturduğu düşmeler birbirini desteklemektedir.

Önemli antioksidanlardan E ve C vitamininin karbon tetraklorür harabiyetini iyileştirici rolü, çeşitli araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir. CCl₄ ile birlikte çeşitli halojen hidrokarbonlarının uygulandığı bir çalışmada E vitamininin karaciğer ve böbrek başta olmak üzere farklı organlarda lipid peroksidasyonunu inhibe edici özelliği bildirilmiştir (33). Bu doğrultuda bir başka çalışmada da aynı madde aracılığıyla yükseltelen plazma ALT enzim aktivitesi yine E vitamini kullanılarak düşürülmüştür (34). Selenyumun glutatyon peroksidaz enziminin kofaktörü olarak enzimatik yolla, E vitamininin ise lipid peroksidasyonunu önleyerek antioksidan savunmaya katılması, bu iki ajanın birlikte gösterdikleri sinerjik etkinin daha kuvvetli bir inhibisyon olabileceğini düşündürmektedir. Isırgan otunun bileşiminde bu iki maddenin de yer alması birbirleriyle etkileşiminin, amaca çok daha uygun cevap verdiği konusunda birleşmekte ve bu çerçevede lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisini açıklamaktadır (35).

Diğer taraftan C vitamininin başlangıç formundaki radikaller üzerinde rolü olmasının yanı sıra E vitamini ile etkileşim ve membran fosfolipidleri ile arasındaki interaktivite etkileşim dolayısıyla kuvvetli bir antioksidan olduğu bilinmektedir (12, 36). Bu nedenle; ısırgan otu yaprağının, karbon tetraklorür uygulanan sıçanlarda yükselmiş olan karaciğer peroksit ve glutatyon düzeyleri ile plazma ALT ve AST enzim düzeyleri üzerinde sağladığı azalmalardan dolayı lipid peroksidasyonunu inhibe edici özellikte olduğu ve içeriğinde bulunan vitaminler ve mineraller de göz önüne alındığında antioksidan etkisinin bulunduğu kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

- Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol* 1990; 68: 989.
- Dormandy TL. An approach to free radicals. *Lancet* 1983; 2: 1010-1014.
- Pryor AW. Can Vitamin C protect humans against the pathological effects of ozone in smog? *J Clin Nutr* 1991; 53: 702.
- Ozen T, Korkmaz H. Modulatory effect of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) leaf extract on biotransformation enzyme systems, antioxidant enzymes, lactate dehydrogenase and lipid peroxidation in mice. *Phytomedicine* 2003; 10: 405-415.
- Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
- Lawrence JM, Bendich A. Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. *Clin Nutr* 1987; 1: 441-445.
- Morgan TR, Laudone VP, Heston WDW, *et al.* Free radical production by high energy shock waves comparison with ionizing irradiation. *J Urol* 1988; 139: 186.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
- Gülçin İ, Küfreviođlu OI, Oktay M, *et al.* Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.) *J Ethnopharmacol* 2004; 90: 205-215.
- Avcı G, Kupeli E, Eryavuz A, *et al.* Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine *J Ethnopharmacol* 2006; 107: 418-423.
- Reilly PM, Schiller HJ, Bulkeley GB. Pharmacologic approach to tissue mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am. J Surg* 1991; 161: 488.
- Bast A, Haenen GR, Doelman CJA. Oxidant and antioxidants. State of the art. *Am J Med* 1991; 91: 2-13.
- Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit. Rev Toxicol* 1993; 23: 21-48.
- Schafer L, Tharling EB. Lipid peroxidation and antioxidant supplementation in old age. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50: 69-75.
- Burk RF, Hill KE, Lane JM. Inhibition of CCl₄ metabolism by oxygen varies between isoenzymes of cytochrome P-450. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 152: 1463-1467.
- Gruebele A, Zawaski K, Kaplan D, *et al.* Cytochrome P 450 E 1 and cytochrome P 450 2B1/282-catalyzed carbon tetrachloride metabolism. *Drug Metab Dispos* 1996; 24: 15-22.
- Nakata R, Tsukamoto I, Miyashi M, *et al.* Liver regeneration of carbon tetrachloride intoxication in the rat. *Biochem Pharmacol* 1985; 34: 586-588.
- Aragno M, Tamagno E, Boccuzzi G, *et al.* Dehydroepiandrosterone pretreatment protects rats against the pro-oxidant and neogenenic effects of carbon tetrachloride. *Biochem Pharmacol* 1993; 46: 1689-94.
- Czaja MJ, Xu J, Alt E. Prevention of carbon tetrachloride induced rat liver injury by soluble tumor necrosis factor receptor. *Gastroenterology* 1995; 108: 1849-1854.
- Yagi K. Assay for blood plasma or serum. *Methods Enzymol* 1984; 105: 328-331.
- Elman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70-77.
- Southorn PA, Powis D. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reaction. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 390-408.
- Letteron P, Labbe G, Deqott C, *et al.* Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: 2027-2034.
- Sanzgiri UY, Kim HJ, Muralidhara S, *et al.* Effects of route and pattern of exposure on the pharmacokinetics and acute hepatotoxicity of carbon tetrachloride. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995; 134: 148-154.
- Johansson I, Ingelman-Sundberg M. Carbon tetrachloride induced lipid peroxidation dependent on an ethanol-inducible form of rabbit liver microsomal cytochrome P450. *FEBS Lett* 1985; 183: 265-269.
- Lee PY, McCay PB, Hornbrook KR. Evidence for carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in mouse liver. *Biochem Pharmacol* 1982; 31: 405-409.
- Ferreira EC, Bernacchi AS, Castro JA. Increased glutathione (GSH) content in livers of control and carbon tetrachloride poisoned rats treated with the antical modulin drug trifluoperazine (TFP). *Res Commun Chem Path Pharmacol* 1986; 53: 399-402.
- Siegers CP, Hom W, Younes M. Effect of hypoxia on the metabolism and hepatotoxicity of carbon tetrachloride and vinylidene chloride in rats. *Acta Pharmacol Toxicol* 1985; 56: 81-86.
- Brewster MA. Vitamins. Kaplan LA, Pesce AJ. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*, Missouri: Mosby-Year Book Inc., 1996.
- Gutteridge JMC, Halliwell B. *Antioxidants in Nutrition, Health and Disease*. New York: Oxford University Press, 1994.
- Uzel N. Karbon Tetraklorür Uygulanan Sıçanlarda Lipid Peroksidasyonunun Plazma Lesitin- Kolesterol Açıl Transferaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 1988.
- Yalçın A. Fare Karaciğerinde Çeşitli Etkenler İle Oluşturulan Doku Hasarlarında GSH, GST ve Selenyum Tayinleri. E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir, 1993.
- Gavino VC, Dillard CB, Tappel AL. Release of ethane and pentane from rat tissue slices: Effect of Vitamin E, halogenated hydrocarbons and iron overload. *Arch Biochem Biophys* 1984; 233: 741-747.
- Yao T, Esposti SD, Huang L, *et al.* Inhibition of carbon tetrachloride-induced liver injury by liposomes containing vitamin E. *Am J Physiol* 1994; 267: 476-484.
- Köşkeröğlü İŞ. Oral mukozada oluşturulmuş yumuşak doku defektinin iyileşmesi ve oksidatif stres üzerine E vitamini ve selenyumun etkisinin deneysel olarak araştırılması. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 1998.
- Kazanç MB. Antioksidan vitaminler. *Sendrom* 1997; 9: 14-23.