

SIÇAN ERİTROSİT VE MİDE DOKUSUNDA OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE ADRENALEKTOMİNİN ETKİSİ

EFFECT OF ADRENALECTOMY ON THE OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN RAT ERYTHROCYTE AND GASTRIC TISSUE

Abdulkadir YILDIRIM, Yaşar Nuri ŞAHİN, Halis SÜLEYMAN

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya (AY, YNŞ) ve Farmakoloji (HS) Anabilim Dalları, Erzurum

Özet

Mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen, adrenalectomi sıçan deneylerinde artmış gastrik mukozal hasarla ilişkilendirilmiştir. Aşırı serbest radikal üretimi, gastrik ülser dahil birçok hastalığın etyopatogenezinde rol oynar. Bu çalışmada sıçanların gastrik doku ve eritrositlerinde bazı oksidatif stres parametreleri üzerine adrenalectominin etkileri araştırıldı. Otuz üç adet erkek sıçan kontrol (grup I), yalancı-operasyon (grup II) ve adrenalectomili grup (grup III) olmak üzere rastgele üç gruba bölündü. Cerrahi işlemlerden 1 hafta sonrası, 1. grup sıçanlar dahil tüm hayvanların kan örnekleri alındı. Sıçanlar öldürüldükten sonra gastrik dokuları biyokimyasal ölçümler için çıkarılarak alındı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, yalancı-operasyon grubunda gastrik dokuda ölçülen superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPX) aktivitelerinde ve malondialdehit (MDA) düzeylerinde bir artış, glutatyon (GSH) düzeylerinde ise bir azalma tespit edildi. Yalancı-operasyon grubu ile karşılaştırıldığında, adrenalectomili grupta gastrik doku SOD ve GPX aktiviteleri ve gastrik doku ve eritrosit MDA düzeyleri azalırken, gastrik doku ve eritrosit GSH düzeyleri artmıştı. Bu sonuçlar adrenalectominin gastrik doku ve eritrositte antioksidan parametrelerin düzeylerini değiştirdiğini göstermektedir. Bundan dolayı, mevcut çalışma adrenal hormonların çeşitli dokulardaki antioksidan moleküller üzerine olan spesifik etkileri için yapılacak daha ileri araştırmalara bir temel oluşturabilir.

Anahtar kelimeler: *Adrenalectomi, Oksidatif stres, Antioksidanlar, Gastrik ülser*

Summary

Adrenalectomy has been associated with increased gastric mucosal injury in rats, although the detailed mechanisms for aggravation remain unknown. The overproduction of free radicals plays a role in etiopathogenesis of many diseases including gastric ulcer. This study evaluated the effects of adrenalectomy on the some oxidative stress parameters in gastric tissue and erythrocyte in rats. Thirty-three male rats were randomly grouped as control (group I), sham-operated (group II), adrenalectomized groups (group III). Eight days after operation on group II and III, blood samples were withdrawn from each animal in all groups including control group. After the rats were sacrificed, gastric tissues were rapidly excised for biochemical analyses. Sham operation in group II caused an increase in superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) activities and malondialdehyde (MDA) levels, and decrease in glutathione (GSH) of gastric tissue, when compared to group I. Adrenalectomy decreased the gastric tissue SOD and GPX activities and gastric tissue and erythrocyte MDA levels, and increased the gastric tissue and erythrocyte GSH levels in group III, when compared to group II. Our results suggest that adrenalectomy appeared to alter the levels of antioxidants in gastric tissue and erythrocyte. Thus, the present study provides a basis for further studies on the putative role of the adrenal hormones on alterations of antioxidant components in various tissues.

Key words: *Adrenalectomy, Oxidative stress, Antioxidants, Gastric ulcer*

Tablo 1. Sıçanların Mide Dokuları ve Eritrosit Hemolizatlarında Ölçülen Bazı Oksidatif Stres Parametrelerinin Çalışma Gruplarındaki Sonuçları

	parametreler	grup I (kontrol) n=11	grup II (yalancı-operasyon) n=11	grup III (adrenalektomi) n=11
mide dokusu	GPX (U/gr protein)	22.9 ± 6.9	30.3 ± 10.2 *	21.3 ± 8.3 *
	SOD (U/gr protein)	382.6 ± 57.6	425.8 ± 43.6 *	366.0 ± 51.2 *
	GSH (nmol/gr protein)	1.8 ± 0.4	1.6 ± 0.4	2.1 ± 0.6 *
	MDA (µmol/gr protein)	107.1 ± 37.4	153.5 ± 50.4 *	96.3 ± 29.1 #
rbc hemolizati	GPX (U/gr Hb)	6.9 ± 2.6	8.5 ± 3.1	6.1 ± 2.8
	SOD (U/gr Hb)	94.8 ± 14.2	101.5 ± 13.9	89.2 ± 12.2
	GSH (nmol/gr Hb)	763.3 ± 219.9	640.1 ± 192.9	932.8 ± 267.5 *
	MDA (µmol/gr Hb)	23.7 ± 7.6	28.11 ± 8.0 *	20.2 ± 5.7 *

Sonuçlar ortalama değer ± standart sapmadır. *: p<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında;

+: p<0.05 ve #: p<0.01 yalancı-operasyon grubu ile karşılaştırıldığında.

RBC: eritrosit; GPX: glutatyon peroksidaz; SOD: superoksit dismutaz; GSH: glutatyon; MDA: malondialdehit.

Giriş

Serbest radikaller, moleküler ya da atomik yörüngesinde ortaklaşmamış elektron içeren kimyasal ürünlerdir. Biyolojik sistemlerde, çeşitli metabolik reaksiyonlar esnasında superoksit anyonu (O₂⁻), nitrik oksit (NO⁻), peroksil radikali (ROO⁻) ve hidroksil radikali (HO⁻) gibi çok sayıda serbest oksijen radikalleri sürekli oluşmaktadır (1). Bununla birlikte, oldukça reaktif özelliğe sahip olan serbest radikaller, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalarla etkisiz hale getirilirler. Serbest oksijen radikallerinin aşırı artışı ve antioksidan sistemlerde yetersizliğin gastrik ülser dahil bir çok hastalığın etyopatogenezinde rol aldığı kabul edilmektedir (2).

Adrenal bez, vücutta homeostatik dengenin korunmasında son derece önemli fonksiyonları olan bir organdır. Adrenal bezin sentezlediği katekolaminler ve glukokortikoidler sindirim sisteminde (özellikle mide dokusunda) gerçekleşen fizyolojik fonksiyonların sürekliliği için gereklidir (3, 4). Gastrik ülser oluşturuca farklı modeller uygulayarak (indometazin veya etanol uygulaması, soğuk odada hareketsiz tutma gibi) stresle ilişkili gastrik mukozal hasar ile adrenal hormonlar ve bazı antioksidan moleküller arasındaki ilişki çeşitli deneysel hayvan çalışmalarında araştırılmıştır. Bu çalışmalarda artmış gastrik mukozal hasarın adrenalektomiyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte adrenalektomiyle ilişkili gastrik mukozal hasarın mekanizması tam olarak açık değildir (5-8).

Serbest radikallerin gastrik ülser oluşumuyla ilişkili olduğu ve antioksidan moleküllerin oksidatif strese karşı gastrik mukozayı koruduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (9). Ayrıca, hem insan çalışmalarında (10) hem de sıçan deneylerinde (11) ülserli gastrik

mukozada superoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPX) aktivitelerinin normal dokuya göre azaldığı rapor edilmiştir. Yukarıda da belirtildiği gibi, deneysel çalışmalarda adrenalektominin gastrik mukozal hasarı artırması, adrenal bezin gastrik dokudaki antioksidan defans sistemi veya serbest radikal metabolizması üzerinde bir düzenleyici fonksiyona sahip olabileceğini akla getirmiştir. Bundan dolayı, bu çalışmada adrenalektominin gastrik dokudaki antioksidan moleküller [SOD, GPX ve glutatyon (GSH)] ve oksidatif stresin bir göstergesi olan lipid peroksidasyon ürünü malondialdehit (MDA) oluşumu üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Adrenalektominin etkilerini karşılaştırmak amacıyla aynı biyokimyasal parametreler sıçanların eritrosit (RBC) hemolizatlarında da ölçüldü.

Gereç ve Yöntemler

Bu çalışmada ortalama 230 ± 20 gr ağırlığında 33 adet Albino Wistar cinsi sıçan kullanıldı. Deney hayvanları Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden elde edildi. Bütün hayvanlar bir hafta süreyle aynı yem içeriği ile beslendi ve deney öncesinde herhangi ek bir uygulamaya tabi tutulmadı. Daha sonra kontrol grubu (grup I, n=11), yalancı operasyon grubu (grup II, n=11) ve adrenalektomili grup (grup III, n=11) olmak üzere rastgele 3 gruba bölündü. Grup I deney hayvanlarına herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadı. Diğer hayvanlar thiopental sodium'la (25 mg/kg, ip) uyutulduktan sonra, lomber bölgeden 2-3 cm'lik dorsal insizyonla böbreklerine ulaşıldı ve adrenal bezleri bulundu. Grup II sıçanların adrenal bezleri yerinde bırakılırken, grup III

sıçanlarınkiler bilateral olarak kesilip çıkartıldı. Operasyon sonrası grup I ve grup II sıçanlar normal laboratuvar diyeti ve musluk suyu ile, grup III sıçanlar normal laboratuvar diyetine ilave % 1' lik NaCl çözeltisi ile beslendi.

Operasyondan bir hafta sonra, sabah saat 08.00–11.00 arası anestezi altında (thiopental sodium, 25 mg/kg, ip) sıçanların göğüs duvarı açıldı ve intrakardiyak bölgeden kanları alınarak hayvanlar öldürüldü. Bekletilmeden mide dokuları çıkartıldı ve buz soğukluğunda izotonik NaCl çözeltisi ile yıkandı. Yaklaşık 200 mg'lık doku örnekleri tampon çözelti içerisinde homojenize edildikten sonra 18000 g de (4 °C'de) 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısmı ayrıldı ve küçük kapaklı tüplere bölünerek analiz edilinceye kadar -80 °C'de saklandı. EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri (2 mL), 2500 g de (4 °C de) 5 dakika santrifüj edildikten sonra, plazma kısmı ve lökositten yoğun üst tabaka pipet yardımıyla alındı. Eritrosit paketi serum fizyolojik (0.15 M NaCl) ile üç kez yıkandıktan sonra buz soğukluğunda deiyonize suyla hemoliz edildi (1/10, v/v) ve hemolizat analiz edilinceye kadar -80 °C'de saklandı.

GPX aktivitesi, Paglia ve Valentine'nin tarif ettiği metoda göre belirlendi (12). Bu metotta, GPX hidrojen peroksit varlığında glutasyonun oksidasyonunu katalizler ve okside glutasyon redükte forma dönüştürülürken ortamdaki NADPH'ın yükseltgenmesiyle oluşan absorbans değişiminin 340 nm'de ölçülmesiyle GPX aktivitesi belirlenir. SOD aktivitesi, ksantin / ksantin oksidaz sistemiyle oluşturulan O₂⁻ radikallerinin nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgememesinin numunede bulunan SOD enzimi tarafından engellenmesi prensibiyle ölçüldü (13). NBT'nin indirgenmesi ile 560 nm dalga boyunda maksimum absorbans veren mor renkli formazan oluşur ve SOD aktivitesinin büyüklüğü oluşan formazanın absorbansıyla ters orantılıdır (13). Doku GSH konsantrasyonu Tietze (14) ve Anderson'un (15), RBC GSH düzeyi ise Beutler'in (16) tarif ettiği metotlarla ölçüldü. GSH'ın sülfidril grubu 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoik asitle (DTNB, Ellman reaktifi) reaksiyona girerek sarı renkli 5-thio-2-nitrobenzoik asit (TNB) oluşur. Oluşan bu renkli ürünün 412 nm'de absorbansının ölçülmesi ile GSH konsantrasyonu belirlenir. MDA konsantrasyonu Jain (17) ve Okhawa'nın (18) spektrofotometrik metoduyla ölçüldü. Tiyobarbutirik asit (TBA) ile MDA'nın oluşturduğu renkli kompleksin absorbansı 532 nm dalga boyunda ölçülerek molar absorbtivite katsayısı (1.52 x 10⁵ M⁻¹.cm⁻¹) yardımıyla MDA konsantrasyonu hesaplandı. Doku homojenatlarında protein tayini Bradford metoduyla yapıldı (19). Hemoglobin konsantrasyonu siyanomethemoglobinin 540 nm dalga boyundaki

absorbansının ölçülmesiyle belirlendi (20). Enzim aktivitesi U/gr protein ya da gr Hb, GSH düzeyleri nmol/gr protein ya da gr Hb ve MDA konsantrasyonları μmol/gr protein ya da gr Hb olarak ifade edildi. Fotometrik ölçümler DU 530 model spektrofotometre (Beckman Instruments, Fullerton, CA) kullanılarak yapıldı.

İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel değerlendirmeleri için tanımlayıcı istatistik analizi yapıldı ve sonuçlar ortalama değer ± standart sapma olarak ifade edildi. Grup ortalamaları arasındaki farkın önemlilik derecesi varyans analizi (ANOVA) ve Post hoc tukey çoklu karşılaştırma testi ile belirlendi. Bu işlemler için "SPSS for Windows, v 11.0" istatistik paket programı kullanıldı ve p<0.05 değerleri önemli kabul edildi.

Bulgular

Gastrik dokuda GPX aktivitesi yalancı operasyon grubuna (grup II) göre adrenalektomili grupta (grup III) daha düşük bulundu (p<0.05). Eritrositte ölçülen GPX aktivitesi ise çalışma grupları arasında anlamlı bir fark göstermedi (Tablo 1).

Kontrol grubu (grup I) ile karşılaştırıldığında, gastrik doku SOD aktivitesi yalancı operasyon grubunda artmış (p<0.05), adrenalektomili grupta ise azalmış olarak ölçüldü (p>0.05). Yalancı operasyon uygulanan sıçanlarla karşılaştırıldığında; adrenalektomili grupta gastrik doku SOD aktivitesi anlamlı düzeyde azalmıştı (p<0.05). Eritrosit SOD aktivitesi ise çalışma grupları arasında anlamlı bir fark göstermedi (Tablo 1).

Hem eritrosit hem de gastrik doku GSH düzeyleri yalancı operasyon grubuna göre adrenalektomili sıçanlarda daha yüksek bulundu (p<0.05) (Tablo 1). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, yalancı operasyon grubunda hem gastrik doku hem de eritrosit MDA düzeyleri artarken (p<0.05), adrenalektomi yapılan sıçanlarda MDA konsantrasyonlarında anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (Tablo 1).

Tartışma

Adrenal bezle gastrik lezyonlar arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda ortaya konmasına rağmen, gastrik dokudaki antioksidan status üzerine adrenalektominin etkisi tam olarak bilinmemektedir (5, 8). Mevcut çalışmada, adrenalektomi yapılmış sıçanlarda endojen adrenal hormonların gastrik doku ve eritrositteki antioksidan savunma mekanizmaları üzerindeki olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Endojen bir antioksidan olan GSH, özellikle insan ve sıçanların gastrik mukozasında yüksek konsantrasyonlarda bulunur (21, 22). Son çalışmalar mide dokusunda bulunan sülfidril bileşiklerinin gastrik mukozal bütünlüğün sürdürülmesinde önemli olabileceğini göstermektedir (23). Bizim sonuçlarımız, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında adrenalektomi sonrası sıçanların mide dokuları ve RBC'lerinde GSH konsantrasyonunun arttığını göstermektedir. Bizim bulgularımız, Toleikis ve ark. (24) daha önce rapor ettikleri sonuçlarla uyumluydu. Onlar adrenalektomi sonrası RBC GSH düzeyinin arttığını çalışmalarında ifade etmişlerdi. Adrenalektomi sonrası GSH düzeylerinde gözlenen artış endojen katekolamin düzeylerindeki azalma ile ilişkili olabilir. Katekolaminlerin otooksidasyonu serbest radikal oluşturabilir (25). Keza, adrenalın makrofajlarda cAMP üzerinden H₂O₂ oluşumunu uyarabilir (26). H₂O₂, GSH'ın substrat olarak kullanıldığı GPX reaksiyonu ile 2 mol H₂O'ya dönüştürülür. Adrenalinin olmadığı veya azaldığı şartlarda (adrenalektomi sonrası gibi) hem GPX reaksiyonu hem de H₂O₂ üretimi ve bunun bir sonucu olarak da MDA oluşumu azalabilir. Sonuçta bu durum daha az GSH tüketimine yol açabilir.

Yaptığımız literatür taramalarında adrenalektominin gastrik doku lipid peroksidasyonu üzerine olan etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlayamadık. Bu çalışmada biz gastrik doku ve RBC hemolizatlarında MDA konsantrasyonlarını ölçtük. Adrenal bezin çıkartılması gastrik doku ve hemolizatta MDA düzeylerini anlamlı şekilde azalttı. Bu sonuçlar, adrenal bez kaynaklı veya adrenal salgılar tarafından kontrol edilen bir faktörün MDA oluşumunu etkileyebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte sıçanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda çeşitli dokularda adrenalektominin lipid peroksidasyonu üzerine olan etkileri ile ilgili bilgiler tartışmalıdır. Toleikis ve ark. (24) adrenalektomi sonrası sıçanların karaciğer, akciğer ve böbrek homojenatlarında *in vitro* lipid peroksidasyonunun azaldığını belirtmişlerdir. Bu bilgilerin aksine Hidalgo ve ark. (27) karaciğer dokusunda adrenalektomi sonrası lipid peroksidasyonunu yalancı operasyon grubuna göre daha yüksek bulduklarını rapor etmişlerdir.

Yukarıda ifade edildiği gibi, adrenalektomi sonrası artmış GSH ve azalmış MDA konsantrasyonları adrenalektominin bir antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermez. Çünkü bizim çalışmamızda, yalancı operasyon grubuyla karşılaştırıldığında adrenalektomili sıçanların gastrik doku ve RBC örneklerinde azalmış bir GPX ve SOD aktivitesi tespit ettik. Adrenalin ve noradrenalin gibi benzen halkası üzerinde *orto*-hidroksil grubu içeren çeşitli moleküller ferritinden demiri serbestleştirme özelliği gösterirler ve bu salınan

demir iyonu çeşitli reaksiyonlarla (Fenton reaksiyonu gibi) serbest radikallerin oluşumuna yol açabilir (28). Bizim çalışmamızda, adrenalektomi sonrası azalmış GPX ve SOD aktiviteleri katekolaminlerin neden olduğu O₂⁻ oluşumundaki azalmaya bağlı olabilir. Serbest radikal oluşumu azalınca buna paralel olarak antioksidan enzim aktiviteleri azalabilir. Diğer taraftan, adrenalektomiye bağlı GPX ve SOD aktivitelerinde azalma, gastrik dokuda bu enzim aktivitelerinin düzenlenmesinde adrenal bezin önemli bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, adrenalektomi sıçanların gastrik dokularında endojen antioksidanların (GPX, SOD ve GSH) aktivite ya da düzeylerini ve keza lipid peroksidasyonunu etkilemektedir. Bu yüzden mevcut çalışma, katekolaminler ve steroidler gibi adrenal hormonların çeşitli dokularda antioksidan moleküller üzerine olan spesifik etkileri için yapılacak daha ileri araştırmalar için bir temel oluşturabilir. İlave olarak, gastrik doku antioksidan status üzerine adrenalektominin etkilerinin bilinmesi, özellikle adrenalektominin uygulandığı deneysel gastrik ülser modelleri için özel bir anlam ifade edecektir.

Teşekkür

Makalenin yazımı aşamasında vermiş oldukları bilimsel destekten dolayı Prof. Dr. Fatih AKÇAY'a ve deney aşamasındaki teknik yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU'na teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. Am J Med 2000; 109: 33-44
2. Samuni A, Karmeli F, Moshen M and Rachmilewitz D. Mechanisms underlying gastric antilcerative activity of nitroxides in rats. Free Radic Res 1999; 30: 133-140
3. Hsu DZ, Wang ST, Deng JF, Liu MY. Epinephrine protects against severe acute gastric bleeding in rats: role of nitric oxide and glutathione. Shock 2005; 23: 253-257
4. Kanemasa H, Ozawa H, Konishi H, et al. Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity in gastric mucosa of normal and adrenalectomized rats. Dig Dis Sci 1999; 44: 2081-2087
5. Hernandez DE, Adcock JW, Nemeroff CB, Prange AJ. The role of the adrenal gland in cytoprotection against stress-induced gastric ulcers in rats. J Neurosci Res 1984; 11: 193-201
6. Avunduk C, Eastwood GL, Polakowski N, Quimby GF. Effects of stress on gastric mucosal prostaglandin generation in intact, adrenalectomized, and sham-operated rats. J Clin Gastroenterol 1990; 12 Suppl 1: S48-51
7. Urushidani T, Kasuya Y, Okabe S. The mechanism of aggravation of indomethacin-induced gastric ulcers by adrenalectomy in the rat. Jpn J Pharmacol 1979; 29: 775-780
8. Takeuchi K, Nishiwaki H, Okada M, Niida H, Okabe S. Bilateral adrenalectomy worsens gastric mucosal lesions induced by indomethacin in the rat. Role of enhanced gastric motility. Gastroenterology 1989; 97: 284-293
9. Bhattacharjee M, Bhattacharjee S, Gupta A, Banerjee RK. Critical role of an endogenous gastric peroxidase in controlling oxidative

- damage in *H. pylori*-mediated and nonmediated gastric ulcer. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 731-743
10. Naito Y, Yoshikawa T, Ando T, et al. Changes in superoxide dismutase activity in the gastric mucosa of peptic ulcer patients. *J Clin Gastroenterol* 1992; 14 Suppl 1: S131-134
 11. Oshima A, Asayama K, Sakai N, Kitajima M. The role of endogenous free radical scavengers on tissue recovery in the experimental ulcer model. *J Clin Gastroenterol* 1990; 12 Suppl 1: S58-64
 12. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-169
 13. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500
 14. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 1969; 27: 502-522
 15. Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol* 1985; 113: 548-555
 16. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-888
 17. Jain SK, McVie R, Duett J, Herbst JJ. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes* 1989; 38: 1539-1543
 18. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358
 19. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-254
 20. Fairbanks V, Klee G. Measurement of hemoglobin concentration in whole blood. In: Tietz N (ed). *Textbook of Clinical Chemistry*. 4th ed., Philadelphia: WB Saunders Co, 1986: 1532-1534
 21. Suwa T, Mune T, Morita H, Daido H, Saio M, Yasuda K. Role of rat adrenal antioxidant defense systems in the aldosterone turn-off phenomenon. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000; 73: 71-78
 22. Stein HJ, Hinder RA, Oosthuizen MM. Gastric mucosal injury caused by hemorrhagic shock and reperfusion: protective role of the antioxidant glutathione. *Surgery* 1990; 108: 467-473; discussion 473-474
 23. Tsukimi Y, Okabe S. Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing. *Biol Pharm Bull* 2001; 24: 1-9
 24. Toleikis PM, Godin DV. Alteration of antioxidant status following sympathectomy: differential effects of modified plasma levels of adrenaline and noradrenaline. *Mol Cell Biochem* 1995; 152: 39-49
 25. Carpagnano GE, Kharitonov SA, Resta O, Foschino-Barbaro MP, Gramiccioni E, Barnes PJ. 8-Isoprostane, a marker of oxidative stress, is increased in exhaled breath condensate of patients with obstructive sleep apnea after night and is reduced by continuous positive airway pressure therapy. *Chest* 2003; 124: 1386-1392
 26. Pereira B, Costa-Rosa LF, Bechara EJ, Newsholme P, Curi R. Changes in the TBARs content and superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the lymphoid organs and skeletal muscles of adrenalectomized rats. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31: 827-833
 27. Hidalgo J, Gasull T, Garcia A, Blanquez A, Armario A. Role of glucocorticoids and catecholamines on hepatic thiobarbituric acid reactants in basal and stress conditions in the rat. *Horm Metab Res* 1991; 23: 104-109
 28. Allen DR, Wallis GL, McCay PB. Catechol adrenergic agents enhance hydroxyl radical generation in xanthine oxidase systems containing ferritin: implications for ischemia/reperfusion. *Arch Biochem Biophys* 1994; 315: 235-243

Yazışma adresi:
Dr. Abdulkadir YILDIRIM

Atatürk Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
25240 ERZURUM
Tel: (+90 442) 236 1212 / 1795
Belge geçer: (+90 442) 236 1054
e-posta: kadir@atauni.edu.tr