

Yüksek Doz Prednizolon Enjekte Edilmiş Ratların Karaciğer, Böbrek ve Kalp Alkalın Fosfataz Aktivitesi Üzerine Oral Vitamin E ve/veya Selenyumun Etkisi

Mine ERIŞİR *  Ebru BEYTUT ** Mesut AKSAKAL *** Ayşe SEYRAN *

* Department of Biochemistry, Veterinary Faculty, University of Firat, 23119, Elazığ - TURKEY

** Department of Physiology, Veterinary Faculty, University of Kafkas, 36100, Kars - TURKEY

*** Department of Physiology, Veterinary Faculty, University of Firat, 23119, Elazığ - TURKEY

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2009-329

Özet

Yüksek doz prednizolon uygulanan ratlarda alkalın fosfataz (ALP) aktivitesi üzerine E vitamini ve Selenyum (Se) ilavesinin etkileri araştırıldı. 210 adet rat 5 gruba ayrıldı (ilk grup 10 rat, diğer her grup 50 rat). Ratlar normal bir diyetle beslendi, fakat 3, 4 ve 5. gruplara oral gavaj ile sırasıyla 20 mg E vitamini, 0.3 mg Se ve bunların kombinasyonları 30 gün boyunca günlük olarak içirildi. Bu uygulamadan sonraki 3 gün kontrole (grup 1) serum fizyolojik, diğer 4 gruba (2, 3, 4 ve 5. grup) ise prednizolon (100 mg/kg canlı ağırlık) intramuskular uygulandı. Prednizolonun son uygulanmasını takiben kontrol grubu hariç, diğer her gruptan 10 adet rat 4, 8, 12, 24 ve 48. saatlerde öldürülerek, karaciğer, böbrek ve kalplerindeki ALP aktiviteleri belirlendi. Yüksek doz prednizolon, 4 ile 24. saatler arasında, ALP aktivitesinin karaciğer dokusunda önemli olarak artmasına, kalp dokusunda önemli azalmasına sebep olmakta, böbrek dokusundaki aktiviteyi ise etkilememektedir. Vitamin E ilavesi, tüm zaman birimlerinde kontrole ve sadece prednizolon uygulanan gruba göre karaciğer ve böbrek ALP aktivitesinde artışa sebep oldu. Vitamin E ilavesi sadece prednizolon uygulanan gruba göre özellikle 4, 8, ve 12. saatlerde kalp ALP aktivitesini önemli derecede artırarak aktiviteleri normale döndürdü. Se ilavesi sadece prednizolon uygulanan grupla karşılaştırıldığında 4. saatten itibaren karaciğer ALP aktivitesini azaltmakta ve prednizolonun sebep olduğu ALP aktivitesindeki artışları önlemekte, 24 ve 48. saatte ise ALP aktivitesini hem kontrole hem de sadece prednizolon uygulanan gruba göre önemli olarak azaltmaktadır. Se ilavesinin rat böbrek ALP aktivitesi üzerine herhangi bir etkisi saptanmadı. Kalp dokusunda ise Se hem kontrol grubuna hemde sadece prednizolon uygulanan gruba göre ALP aktivitesinin azalmasına sebep olmaktadır. Karaciğer ve böbrekte kombine grupta tüm zaman birimlerinde aktivitenin kontrol değerlerine yakın olduğu tespit edildi. Kalpte ise vitamin E ve Se kombinasyonunun ilavesi sadece prednizolon uygulanan gruba ve kontrol grubuna göre ALP aktivitesinin önemli azalmasına sebep oldu. Prednizolon uygulanan ratlarda, çalışılan dokularda genelde vitamin E ilavesi ALP aktivitesini artırıcı, Se ise azaltıcı etkiye sahipti. ALP aktivitesinde meydana gelen azalmalar vitamin E ilavesi ile ALP aktivitesinde meydana gelen artışlar ise Se ilavesi ile engellenebilir.

Anahtar sözcükler: *Prednizolon, Alkalın fosfataz, Vitamin E, Selenyum, Rat*

Effects of Oral Vitamin E and/or Selenium on Alkaline Phosphatase Activity in the Liver, Kidneys and Heart of Prednisolone-Injected Rats

Summary

The effects of dietary intake vitamin E and Se on alkaline phosphatase (ALP) activity in rats treated with high doses of prednisolone were investigated. 210 rats were divided into five groups (50 rats per groups, except for the first group with 10 rats). The rats were fed a normal diet, but groups 3, 4, and 5 received a daily supplement with oral gavage the 20 mg vitamin E, 0.3 mg Se, and a combination of vitamin E and Se, respectively, for 30 days. For 3 days subsequently, the control group (group 1) was given a placebo, and the remaining 4 groups (groups 2, 3, 4, and 5) were injected intramuscularly with 100 mg kg⁻¹ body weight prednisolone. After the last administration of prednisolone, 10 rats from each of the groups other than the control were killed at 4, 8, 12, 24, and 48h and the activity ALP enzyme in the liver, kidneys and heart was measured. In the group treated with prednisolone alone, ALP activity in the liver was significantly increased between 4 and 24 h, in the heart were significantly decreased. ALP activity in the kidneys was not affected by prednisolone. Compared to the control and prednisolone groups, ALP activity in the liver and kidneys of the vitamin E supplemented groups was found to be increased at all time periods. Compared to the prednisolone group, ALP activity in the heart was significantly increased in the vitamin E administered group between 4 and 12 h, recovered to the control level at 24 and 48 h. Compared to the prednisolone groups, ALP activity in the liver was decreased significantly in the Se administered group after 4 h. The increment in the liver ALP activity induced by prednisolone was reduced by Se supplementation. But compared to both the control and prednisolone groups, the ALP activity was significantly decreased in the Se administered group at 24 and 48 h. ALP activity in the kidneys was not affected by Se supplementation. Compared to both the control and prednisolone groups, ALP activity in the heart was decreased in the Se administered group at all time periods. No significant differences were found at any time period in the liver and kidneys ALP activity in the combination group compared to the control. Compared to both the control and prednisolone groups, ALP activity in the heart was significantly decreased in the combination group. The present study demonstrates that in rats treated with prednisolone, generally, vitamin E supplementation increases ALP activity, but Se supplementation decreases. Therefore, vitamin E supplementation may prevent the decreases in ALP activity, Se supplementation may prevent the increases.

Keywords: *Prednisolone, Alkaline phosphatase, Vitamin E, Selenium, Rat*



İletişim (Correspondence)



+90 424 2370000/3960



mineerisir@yahoo.com

GİRİŞ

Alkalın fosfataz (EC 3.1.3.1; ortofosforik-monoester fosforilaz, ALP) alkali ortamda (pH: 8-10) fosforik asit esterlerinin sentezini ve fosforik asidin ayrılmasını katalizler. Alkalın fosfataz membran transport mekanizmaları, kalsifikasyon ve gelişme, DNA ve karbonhidratların metabolizması ve farklılaşması gibi fonksiyonlara sahiptir ¹.

Membrana birleşmiş bir enzim olan ALP karaciğer, böbrek, kemik, plasenta, bağırsak gibi birçok dokuda mevcuttur. Rat alkalın fosfataz aktivitesinin en yüksek seviyesi kemik, böbrek ve bağırsakta tespit edilmiştir ².

Vitamin E hücrelerde homeostazisi sağlar ³. Hayvan beslenmesinde selenyumun (Se) önemi ve onun vitamin E ile yakın metabolik ilişkisinden dolayı ratlarda, karaciğer nekrozunun diyetsetel önlenmesinde, Se'un vitamin E ile yer değiştirebileceği önerilmiştir ⁴. Vitamin E ve Se'un karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğu, karaciğer hasarını ve hasar sonucu plazmada yükselmiş ALP seviyelerini önemli olarak azalttığı bilinmektedir ⁵⁻¹⁰.

Glikokortikoidlerin etkisi ile rat karaciğer dokusu veya karaciğer kültür hücrelerinde ve rat serumunda ALP aktivitesinin arttığı bilinmektedir ^{2,11-14}. Yüksek doz glikokortikoidlerin karaciğer ALP aktivitesini nasıl etkilediği hakkında herhangi bir bilgi yoktur. Bu nedenle yüksek doz prednizolonun karaciğer ALP aktivitesi üzerine etkisiyle beraber muhtemel enzim artışı üzerine vitamin E ve Se'un koruyucu etkisinin olup olmadığı da araştırıldı.

MATERYAL ve METOT

Araştırmamızda ağırlıkları 250±25 g, 2-3 aylık, klinik olarak sağlıklı 210 adet erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar her kafeste 5 adet olacak şekilde ve ısısı 20°C olan bir odada tutuldu. Hayvanlar çalışmaya başlamadan 14 gün önce alınarak ortama adapte olmaları sağlandı. Bu süre boyunca hayvanlara yem ve su ad libitum olarak verildi. Bu sürenin sonunda ratlar 5 gruba (birinci grupta 10 rat, diğer gruplarda 50 adet olacak şekilde) ayrıldı. Birinci ve ikinci gruplara normal rat yemi verilirken 3, 4 ve 5. gruplara ise bir ay (30 gün) boyunca günlük olarak sırasıyla E vitamini (20 mg dl- α tokoferil asetat 0.2 ml mısır yağında çözöldü), Se (0.3 mg Na₂SeO₃ %0.9'luk NaCl solüsyonunda çözöldü) ve E vitamini ve Se kombinasyonu (20 mg dl- α tokoferil asetat ve 0.3 mg Na₂SeO₃) ağızdan verildi. Bu sürenin sonunda 100 mg/kg canlı ağırlık (CA) prednizolon ilk grup dışındaki diğer grupların tümüne 3 gün süresince IM olarak enjekte edildi. Kontrol olarak kullanılan birinci gruba ise diğer gruplarla eşitliği sağlamak için aynı miktar ve sürede serum fizyolojik enjekte edildi. En son prednizolon

enjeksiyonundan sonraki 4, 8, 12, 24 ve 48. saatlerde her gruptan 10 rat olacak şekilde hayvanlar eter anestezisinde uyutularak karaciğer, böbrek ve kalpleri çıkarıldı.

Doku örnekleri iki süzgeç kâğıdı arasında kurutulduktan sonra 1 g tartılıp, pH'sı 7.4 olan ve %1.15 KCl içeren 10 mM sodyum-potasyum fosfat tamponu ilave edilip (1/10, w/v) kırılmış buz içerisinde Potter-Elvehjem cam-cam homojenizatörle homojenize edildi, elde edilen homojenatlar soğutmalı santrifüjde (Sorvall RC-5B) 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantlar enzim kaynağı olarak kullanıldı ¹⁰. Süpernatantlardaki ALP aktiviteleri 405 nm'de para-nitrofenolfosfatın para-nitrofenole dönüşümüne dayalı metotla ölçöldü ¹⁵. Çalışmada bir ünite ALP aktivitesi; 1 saatte 1 μ mol para-nitrofenol oluşturan enzim aktivitesidir.

İstatistiksel analiz: Gruplar arasındaki farkın kontrolünde SPSS istatistik programı kapsamında varyans analizi ve Duncan testinden faydalanıldı, sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi.

BULGULAR

Sadece prednizolon uygulamasının karaciğer ALP aktivitesini tüm zaman birimlerinde arttırdığı, 4 ve 24. saatler arasında önemli olarak arttırdığı, en fazla artışa 8. saatte sebep olduğu saptandı. Vitamin E ilavesi, kontrole ve sadece prednizolon uygulanan gruba göre karaciğer ALP aktivitesinde önemli artışa sebep oldu. Se ilavesi sadece prednizolon verilen grupla karşılaştırıldığında 4. saatten itibaren karaciğer ALP aktivitesini azalttı ve prednizolonun sebep olduğu ALP aktivitesindeki artışları önledi, 24 ve 48. saatte ise ALP aktivitesini hem kontrole hem de prednizolon uygulanan gruba göre önemli olarak azalttı. Kombine grupta ise tüm zaman birimlerinde aktivitenin kontrol değerlerine döndüğü tespit edildi (*Tablo 1*).

Prednizolon uygulaması ve Se ilavesinin rat böbrek ALP aktivitesi üzerine herhangi bir etkisi saptanamadı. Vitamin E ilave edilmiş grupta, ALP aktivitesi tüm zaman birimlerinde kontrole göre arttı, sadece prednizolon uygulanan gruba göre ise önemli olarak arttı. Kombine grupta ise aktivitenin genelde kontrol değerlerine döndüğü tespit edildi (*Tablo 2*).

Sadece prednizolon uygulanan grubun kalp dokusu ALP aktivitesinde 4 ile 24. saatler arasında önemli azalma saptandı. Vitamin E ilavesi sadece prednizolon uygulanan gruba göre özellikle 4, 8 ve 12. saatlerde kalp ALP aktivitesini önemli derecede artırdı. Se'un tek başına ve vitamin E + Se kombinasyonunun ilavesi sadece prednizolon uygulanan gruba ve kontrol grubuna göre ALP aktivitesinin önemli azalmasına sebep oldu (*Tablo 3*).

Tablo 1. Prednizolon uygulanan ratların karaciğerindeki ALP aktivitesi (U/L) üzerine diyetel vitamin E ve Se alüminin etkisi**Table 1.** Effects of dietary vitamin E and selenium on alkaline phosphatase activity (U/L) in the liver of rats treated with prednisolone

Kontrol	n	Süre (saat)	Prednizolon	Vitamin E	Se	Kombinasyon	P
17.05±1.74 ^a	10	4	24.91±1.47 ^b	44.85±3.03 ^c	18.41±3.55 ^{ab}	14.35±0.79 ^a	<0.001
	10	8	66.45±7.70 ^b	67.29±2.18 ^b	39.94±2.87 ^c	23.40±1.06 ^a	<0.001
	10	12	37.97±3.19 ^b	52.90±4.54 ^c	28.07±3.24 ^d	24.84±1.45 ^{ad}	<0.001
	10	24	26.03±1.72 ^b	48.00±1.95 ^c	9.80±0.61 ^d	19.68±1.72 ^a	<0.001
	10	48	22.35±2.15 ^a	46.90±2.89 ^b	10.32±0.59 ^c	17.08±2.07 ^a	<0.001

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir

Tablo 2. Prednizolon uygulanan ratların böbreğindeki ALP aktivitesi (U/L) üzerine diyetel vitamin E ve Se alüminin etkisi**Table 2.** Effects of dietary vitamin E and selenium on alkaline phosphatase activity (U/L) in the kidneys of rats treated with prednisolone

Kontrol	n	Süre (saat)	Prednizolon	Vitamin E	Se	Kombinasyon	P
1474.50±84.35 ^{ab}	10	4	1340.50±74.69 ^{ab}	1789.50±154.09 ^c	1585.50±93.24 ^{bc}	1202.50±89.47 ^a	<0.01
1474.50±84.35 ^{ab}	10	8	1388.00±110.53 ^a	1707.50±36.90 ^b	1410.50±91.33 ^a	1560.00±90.23 ^{ab}	<0.05
1474.50±84.35 ^a	10	12	1698.50±129.81 ^{ab}	2327.50±222.59 ^c	1517.00±127.85 ^a	2024.50±173.14 ^{bc}	<0.001
1474.50±84.35 ^{ab}	10	24	1238.00±109.54 ^a	1660.00±95.32 ^b	1276.00±65.20 ^a	1582.00±116.45 ^b	<0.05
1474.50±84.35 ^{ab}	10	48	1285.50±61.78 ^a	1822.00±132.36 ^c	1287.00±90.86 ^a	1706.50±65.48 ^{bc}	<0.001

a,b,c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir

Tablo 3. Prednizolon uygulanan ratların kalbindeki ALP aktivitesi (U/L) üzerine diyetel vitamin E ve Se alüminin etkisi**Table 3.** Effects of dietary vitamin E and selenium on alkaline phosphatase activity (U/L) in the heart of rats treated with prednisolone

Kontrol	n	Süre (saat)	Prednizolon	Vitamin E	Se	Kombinasyon	P
146.06±14.45 ^a	10	4	36.58±1.97 ^b	78.90±3.70 ^c	29.02±1.49 ^b	20.26±1.05 ^b	<0.001
	10	8	50.34±6.03 ^b	80.40±10.17 ^c	29.96±1.65 ^b	28.31±3.98 ^b	<0.001
	10	12	80.14±8.59 ^b	114.80±10.9 ^c	24.26±1.67 ^d	15.38±0.93 ^d	<0.001
	10	24	118.00±8.98 ^a	120.40±12.8 ^a	19.92±0.80 ^b	17.91±2.61 ^b	<0.001
	10	48	140.32±12.21 ^a	134.80±8.25 ^a	15.90±1.32 ^b	14.12±2.40 ^b	<0.001

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir

TARTIŞMA ve SONUÇ

Zernik ve ark.², ratlarda kemik ve böbreklerde en yüksek, karaciğer ve plasentada daha düşük ALP aktivitesini tespit etmiştir. Benzer olarak bu çalışmada da en yüksek ALP aktivitesi böbreklerde bulunmuştur. Kalp ve karaciğer dokusundaki ALP aktiviteleri ise daha düşüktür.

Glikokortikoidlerin ratlarda karaciğer ALP aktivitesini artırdığı bilinmektedir ^{2,11-14}. Ratlarda 1 mg kortizolün infüzyonundan 22 saat sonra karaciğer ALP aktivitesinde yaklaşık 4 misli artış olduğu ve enzim molekülünün sentezinin arttığı bildirilmiştir ¹¹. Yine ratlara oral olarak verilen deksametazon (20 mg/kg) serum ALP düzeylerinin 3 ve 12. günlerde artmasına sebep olmuştur ¹⁴. Mevcut çalışmada da yüksek doz prednizolon tüm zaman birimlerinde karaciğer ALP aktivitesinde artışa sebep olup, özellikle prednizolonun uygulanmasından

sonraki 8. saatte yaklaşık 4 misli artışa sebep olmuştur. Ayrıca hipofizektominin ratlarda serum ALP düzeylerinin azalmasına sebep olduğu da bildirilmiştir ¹⁶.

Ratlarda en azından iki ALP geni tanımlanabilmiştir. Biri karaciğer, böbrek, kemik ve plasentadaki ALP'yi diğeri bağırsaklardakini ifade eder ². Zernik ve ark.², rat karaciğer, böbrek, kemik ve plasenta ALP geninin biri indüklenabilen (upstream promotor) diğeri baskılanabilen (downstream promotor) iki alternatif promotoru bulunduğunu ve böbrek ALP'sinin tercihen downstream promotor tarafından ifade edildiğini ve downstream promotordan transkriptlerin seviyesinde küçük değişiklikler olduğunu tespit etmişlerdir. Ratlarda, karaciğer ve böbrek ALP'si aynı gen tarafından ifade edilmesine rağmen, bizim çalışmamızda yüksek doz prednizolon tarafından karaciğerdeki ALP aktivitesinin önemli olarak arttığı fakat böbrek ALP aktivitesinin etkilenmediği saptanmıştır.

Dokular arasındaki bu farklılık, ALP geninin bu iki alternatif promotorunun transkripsiyonunun dokuya özel ve hormonla uyarılabilen regülasyonunun farklılığıyla ilişkilendirilebilir.

Adrenalektomi rat böbrek ALP aktivitesini değiştirmez ¹¹. Melani ve ark.¹⁷, normal ve adrenalektomili ratların böbreklerdeki ALP aktivitesinin, tek doz kortizol (3 mg/100 g IP) enjeksiyonundan sonraki 4, 12 ve 24. saatlerde etkilenmediğini ve rat böbrek ALP'sinin kortizole cevapsız olduğunu bildirmişlerdir. Benzer olarak bu çalışmada da yüksek doz prednizolon ile muamele edilen ratların böbreğinde ALP aktivitesinde önemli farklılıklar saptandı. Maymun böbrek korteksinden elde edilen kültür hücrelerinde deksametazon ¹⁸, emme dönemindeki fare böbreğinde kortikosteron ¹⁹ ve insan fetus böbrek kültürlerinde hidrokortizon ²⁰ ALP aktivitesi üzerine etkisizdi. Görüldüğü üzere farklı glikokortikoidler farklı türlerde böbrek ALP aktivitesi üzerine aynı etkiye sahiptir.

Daha önce belirtildiği gibi ratlarda biri karaciğer, böbrek, kemik ve plasentadaki diğeri bağırsaklardaki ALP'yi ifade eden en azından iki ALP geni tanımlanabilmiştir ². Prednizolon uygulanan ratlarda karaciğer ALP aktivitesi önemli derecede artarken, kalp dokusundaki ALP prednizolonun etkisi ile önemli derecede azalmaktadır. Bu durum ratlarda kalp dokusundaki ALP'nin de farklı bir gen tarafından ifade edildiğine işaret edebilir. Farklı gen ürünlerinin elektroforetik göçü, kimyasal ve ısı inhibisyonu, spesifik antikor reaksiyonları, yarı ömürleri farklı olduğu gibi farklı dokulardaki ALP genlerinin steroidlere cevabı da farklı olabilir.

Vitamin E ve Se'un karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğu, karaciğer hasarını ve hasar sonucu plazmada yükselmiş ALP seviyelerini önemli olarak azalttığı bilinmektedir ⁵⁻¹⁰.

Kadmiyum, kromiyum veya alüminyum uygulanan farelerin karaciğer, böbrek, testis dokularında ALP aktivitesindeki azalmalar vitamin E ilavesi ile minimize edilmiştir ^{10,21,22}. Mevcut çalışmada da vitamin E ilavesinin genelde çalışılan tüm dokularda ALP aktivitesini artırıcı etkisi saptanmıştır. Özellikle kalp dokusunda prednizolonun sebep olduğu ALP aktivitesindeki azalmalar üzerine vitamin E'nin etkili olduğu saptanmıştır. Bununla beraber, vitamin E ile muamele edilen ekstra-hepatik safra kanalı bağlanmış ratların serum ALP değerlerinin sadece ekstra-hepatik safra kanalı bağlanmış ratlarınkinden yaklaşık iki misli olduğu bildirilmiştir ²³. Biz de karaciğerde prednizolonla indüklenmiş ALP aktivitesini vitamin E'nin daha artırdığını saptadık.

Farelerde vanadyum, kadmiyum veya alüminyum ile oluşturulan karaciğer, böbrek ve testis hasarında, ALP

aktivitelerindeki azalma Se ilavesi ile engellenmiştir ^{8,10,24}. Mevcut çalışmada kalp dokusunda prednizolonun etkisiyle oluşan ALP aktivitesindeki azalma Se ilavesi ile engellenememiş, fakat karaciğer dokusunda prednizolonun sebep olduğu ALP aktivitesindeki artma Se ilavesi ile engellenebilmiştir. Se'un genelde ALP aktivitesini azaltıcı etkisi saptanmıştır.

Vitamin E ve Se hücrelerde birçok sinerjistik fonksiyonlara sahiptir ²⁵. Fakat bu çalışmada Se ve vitamin E'nin ALP aktivitesini farklı olarak değiştirdiği saptanmıştır. İlginç olarak, vitamin E ve Se kombinasyonunun etkisi daha farklı olup, prednizolonun etkisiyle ALP aktivitesinin farklı olarak değiştiği kalp ve karaciğer dokusunda vitamin E ve Se kombinasyon grubunda ALP aktivitesi prednizolon uygulanan gruba göre önemli düşüş göstermiştir.

Sonuç olarak yüksek doz prednizolon ALP aktivitesinin dokuya özel farklı değişimlerine neden olmakta, karaciğer dokusunda ALP aktivitesini artırmakta, kalp dokusunda azaltmakta, böbrek dokusunda ise etkilememektedir. Prednizolon uygulanan ratlarda, çalışılan dokularda genelde vitamin E ilavesi ALP aktivitesini artırıcı, Se ise azaltıcı etkiye sahiptir. ALP aktivitesinde meydana gelen azalmalar vitamin E ilavesi ile, ALP aktivitesinde meydana gelen artışlar ise Se ilavesi ile engellenebilir.

KAYNAKLAR

1. Joseph J, Devkar RV, Ramachandran AV: Effect of dexamethasone and corticosterone on activity levels of ATPase, phosphomonoesterases and phosphodiesterase in liver, muscle and testis of post-hatched white leghorn chicks. *Indian J Exp Biol*, 35, 977-982, 1997.
2. Zernik J, Kream B, Twarog K: Tissue-specific and dexamethasone-inducible expression of alkaline phosphatase from alternative promoters of the rat bone/liver/kidney/placenta gene. *Biochem Biophys Res Commun*, 176 (3): 1149-1156, 1991.
3. Gallo-Torres HE: Absorption, Blood Transport and Metabolism of Vitamin E. In, Machlin LJ (Ed): Vitamin E: A Comprehensive Treatise. pp. 170-267, Marcel-Dekker, New York, 1980.
4. Schwarz K, Folz CM: Selenium as an integral part of factor 3 against dietary liver degeneration. *J Am Chem Soc*, 79, 3292-3293, 1957.
5. Kalender S, Oğutcu A, Uzunhisarcikli M, Açıkgoz F, Durak D, Ulusoy Y, Kalender Y: Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicol*, 211, 197-206, 2005.
6. Bansal KA, Bansal M, Soni G, Bhatnagar D: Protective role of vitamin E pre-treatment on N-nitrosodiethylamine induced oxidative stress in rat liver. *Chem Biol Interact*, 156, 101-111, 2005.
7. Mostafavi-Pour Z, Zal F, Monabati A, Vessal M: Protective

effects of a combination of quercetin and vitamin E against cyclosporine A-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Hepatol Res*, 38, 385-392, 2008.

8. Shrivastava S, Jadon A, Shukla S: Effect of tiron and its combination with nutritional supplements against vanadium intoxication in female albino rats. *J Toxicol Sci*, 32, 185-192, 2007.

9. Liu GJ, Zhao JH, Liu JY, Wang LX: Effect of selenium-enriched malt on hepatocarcinogenesis, paraneoplastic syndrome and the hormones regulating blood glucose in rats treated by diethylnitrosamine. *Life Sci*, 78, 2315-2321, 2006.

10. El-Demerdash MF: Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *J Trace Elem Med Biol*, 18, 113-121, 2004.

11. Pekarthy MJ, Short J, Lansing IA, Lieberman I: Function and control of liver alkaline phosphatase. *J Biol Chem*, 247 (6): 1767-1774, 1972.

12. Jung W, Gebhardt R, Mecke D: Alterations in activity and ultrastructural localization of several phosphatases on the surface of adult rat hepatocytes in primary monolayer culture. *Eur J Cell Biol*, 27 (2): 230-241, 1982.

13. Freeman RH, Rostorfer HH: Hepatic changes in renin substrate biosynthesis and alkaline phosphatase activity in the rat. *Am J Physiol*, 223 (2): 364-370, 1972.

14. Donald S, Verschoyle DR, Greaves P, Orr S, Jimeno J, Gescher JA: Comparison of four modulators of drug metabolism as protectants against the hepatotoxicity of the novel antitumor drug yondelis (ET-743) in the female rat and in hepatocytes *in vitro*. *Cancer Chemother Pharmacol*, 53, 305-312, 2004.

15. Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ: A Method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J Biol Chem*, 164, 321-323, 1946.

16. Henriquez-Hernandez LA, Flores-Morales A, Santana-

Farre R, Axelsson M, Nilsson P, Norstedt G, Fernandez-Perez L: Role of pituitary hormones on 17 α -ethinylestradiol-induced cholestasis in rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 320, 695-705, 2007.

17. Melani F, Farnararo M, Chiarugi VP: Molecular aspects of the regulation of rat kidney alkaline phosphatase. *Biochem J*, 121, 33-40, 1971.

18. Yora T, Sakagishi Y, Tashima Y, Kumegawa M: Effects of dibutyryl adenosine 3':5'-cyclic monophosphate and other agents on induction of alkaline phosphatase activity in monkey kidney cells. *J Biochem*, 95, 369-376, 1984.

19. Brière N: Effect of hormones on hydrolase activities and DNA synthesis in kidney of the developing mouse. *Can J Physiol Pharmacol*, 66 (5): 580-585, 1988.

20. Bertrand L, Briere N: Effect of hydrocortisone on the maturation of human foetal kidney explants in serum-free organ culture. *Biochem Cell Biol*, 67, 121-127, 1989.

21. Dey KS, Nayak P, Roy S: Alpha-tocopherol supplementation on chromium toxicity: A study on rat liver and kidney cell membrane. *J Environ Sci*, 15 (3): 356-359, 2003.

22. El-Demerdash MF, Yousef IM, Kedwany SF, Baghdadi HH: Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: Protective role of vitamin E and β -carotene. *Food Chem Toxicol*, 42, 1563-1571, 2004.

23. Montilla P, Cruz A, Padillo JF, Tunez I, Gascon F, Munoz MC, Gomez M, Pera C: Melatonin versus vitamin E as protective treatment against oxidative stress after extra-hepatic bile duct ligation in rats. *J Pineal Res*, 31, 138-144, 2001.

24. Flora SJS, Behari RJ, Ashquin M, Tandon KS: Time-dependent protective effect of selenium against cadmium-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity. *Chem Biol Int*, 42, 345-351, 1982.

25. Meydani M: Modulation of platelet thromboxane A2 and aortic prostacyclin synthesis by dietary selenium and Vitamin E. *Biol Trace Elem Res*, 33, 79-86, 1992.