

Aluminyum Sülfat'ın "Ross" Cinsi Term Besi Cıvivi Karaciğerinde Yarattığı Toksik Ve İnflamatuvar Hasar

Oxidative And Inflammatory Damage Of Aluminium Sulphate On The Liver Of Term Ross Broiler Chick

Emin Oğuzhan Oğuz¹, Hayati Yüksel², Havane Enli³, Yaşar Enli³, Onur Zorbozan¹, Zuhâl Can⁴, Günfer Turgut⁵

¹Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Abd

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Abd

³Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Abd

⁴Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deneysel Hayvan Araştırma Birimi

⁵Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD

Amaç: Döllenen Ross cinsi besi tavuk yumurtalarına kuluçkanın 1.gününde toksik dozda verilen Aluminyum Sülfat'ın term cıvivi karaciğerinde yaratmış olduğu muhtemel histolojik ve biyokimyasal etkilerin gösterilmesi.

Gereç ve Yöntem: Döllenen Ross cinsi besi yumurtaları üç gruba ayrılarak deney grubu hava boşluğuna kuluçkanın 1.gününde 1000 mcg/0.1 ml serum fizyolojik içinde Aluminyum sülfat verildi. Sham grubuna sadece 0.1 ml serum fizyolojik uygulanırken, Kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmadı. Terme ulaşan cıvivilerden karaciğerler alınarak ışık mikroskobu ile histolojik değişikliklere ve biyokimyasal olarak oksidatif reaksiyon indikatörleri olan Malondialdehit (MDA) ve Glutasyon (GSH) düzeylerine bakıldı.

Bulgular: Işık mikroskobunda deney grubunda karaciğerde yaygın inflamasyona, hepatosit hasarına, santral ven duvarında kalınlaşma ve pasif konjesyona ve sinuzoid yapısında bozulmaya rastlandı. Biyokimyasal olarak ise deney grubunda oksidatif reaksiyonu gösteren MDA yüksekliği ve GSH tükenmesi verilen dozda term Ross besi cıvivilerinde ilk kez gösterildi. Hem histolojik hem de biyokimyasal olarak Sham ve Kontrol gruplarında herhangi bir değişikliğe rastlanmadı.

Sonuç: Döllenen Ross cinsi besi tavuk yumurtalarına kuluçkanın 1.gününde 1000 mcg/0.1ml serum fizyolojik içinde verilen Aluminyum Sülfat term cıvivi karaciğerinde yaygın inflamatuvar ve oksidatif hasara yol açmıştır.

Anahtar Kelimeler: **aluminyum toksisitesi, karaciğer, histoloji, biyokimya, Malondialdehid, Glutasyon**

Aim: To show histological and biochemical effects of toxic dose Aluminium Sulphate injected on the day 1 in the liver of term Ross broiler chicks.

Materials and Methods: Fertilised Ross broiler chicken eggs which reached term were divided into three groups and experimental group were injected by 1000 mcg/0.1ml saline into their air chambers. Sham group eggs were injected by saline only and control group eggs were not applied anything. After incubation, at term, on the day 21, surviving chicks were sacrificed, livers taken and histological and biochemical investigation were performed. A lobe of the livers were Hematoxylen Eosin stained and observed under light microscopy. Other lobe of the livers were used to determine Malondialdehyde (MDA) and Glutathion (GSH) levels.

Findings: First time in term Ross broiler chicks, in experimental group, massive in liver inflammatory changes, sinusoidal impairment and hepatocyte specific pathologies were seen under light microscopy examination. As an oxidative damage indicators tremendous MDA level increase and GSH level decrease were observed. In sham and control groups normal liver histology and normal MDA and GSH levels were observed.

Conclusion: In experimental group, toxic dose Aluminium Sulphate injected into the air chambers of Ross broiler chicken eggs on the day 1 showed massive histological inflammatory damage and increased MDA and decreased GSH levels at term chick livers.

Key Words: **aluminium toxicity, liver, histology, biochemistry, Malondialdehyde, Glutathion**

Başvuru tarihi: 24.12.2007 • Kabul tarihi: 15.07.2008

İletişim

Emin Oğuzhan Oğuz
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji-
Abd, Dekanlık
Kınıklı 20070 Denizli
Tel : (505) 737 87 50
E-posta adresi: oguzemin@yahoo.com

Aluminyum (Al) doğada en bol bulunan bir element olmasına karşın bilinen bir biyolojik fonksiyonu yoktur(1). Bolluğu nedeniyle, her organizma belli miktarlarda Al

içerir. Erişkin farede sırasıyla karaciğer, böbrek ve beyinde birikir kalp, kan ve kemik diğer Al depolanılan yerlerdir. (2-7).

Al'un spesifik periferik etkilerini ele almak gerekirse, periton içine enjekte edilen Alüminyum Sülfat'ın sıçan testisinde yol açtığı germinatif hasar ve böbrekte özellikle tübüler sisteme yaptığı dejeneratif hasardır ve bu organlarda gösterilen histolojik hasar Alüminyumla birlikte periton içi vitamin E verilmesiyle ortadan kalkmaktadır(8-9). Vitamin E'ye benzer koruyucu antioksidatif etki askorbik asit için de gösterilmiştir(10). Bunların yanında kronik Al alımı sıçanlarda böbrekte oksidatif reaksiyonun yanında fonksiyon bozukluğu da yaratmıştır(11). Beyin dokusunda ise biriken Al oksidatif hasara(12) ve nörolojik hastalıklara yol açarken, kemikte fosfor ve kalsiyum bozukluklarına ve sonuçta osteomalasiye yol açar(13).

Al'un diğer bir sitemik etkisi, hematolojik sisteme olan etkisidir; gelişmekte olan civcivlerde Al alımını karaciğer ve barsaklarda demir depolarını azaltmış, dokularda ferritin düzeyleri daha fazla olmak üzere nonhem demir düzeylerinde azalmaya ve sonuçta anemiye yol açmıştır(14-16).

Al karaciğerde yüksek konsantrasyonlarda toksik etkiler gösterip, alınan dozla lineer bir birikim gösterir ve çok az bir miktarı karaciğerden atılır(17). Al karaciğerde histolojik olarak morfolojilere de yol açmış(18), safra sekresyonunu yarattığı inflamasyon ve oksidatif hasarla bozarak kolestaza yol açmıştır(19,20).

Al'un gelişimsel patolojilere yol açtığı da bir gerçektir, Golub ve ark çalışmasında gebe farelere gebelik ve lohusalık döneminde gebeliğin başından itibaren diyetle verilen Al, annelerde dalak ve karaciğer ağırlığında artmaya ve rahim içi gelişme geriliğinin bir göstergesi olan tepe-topuk ölçüsünün kılmasına yol açmıştır(21). Ebina ve

arkadaşlarının çalışması ise gebe sıçanlara intraperitoneal verilen Al bileşiklerinin nisbeten küçük dozlarının belli metal çelatörleriyle verildiğinde dahi gebelik toksikoza oluşturduğunu göstermiştir(22).

Al'un yarattığı etkilerin temelde sitemik peroksidatif hasar etkisi ve serbest radikallerin oluşumu olduğu literatürdeki çalışmalarda açıkça görülmektedir(16).

Bu çalışmamızda amacımız Ross cinsi broiler tavuğu fertilize yumurtalarına term 1. günde toksik dozda uyguladığımız Alüminyum Sülfat'ın yenidoğan civciv karaciğeri üzerinde gösterdiği histolojik ve biyokimyasal peroksidatif göstergeleri incelemektir.

Gereç ve Yöntem

On sekiz adet 1 günlük Ross türü döllenen besli tavuğu yumurtası (Abaloğlu Holding Tavuk Besi Birimi, İzmir / Türkiye) rasgele bir şekilde üç deneysel gruba ayrıldı; deney grubu ($n=7$), sham grubu ($n=8$) ve kontrol grubu ($n=7$). Tüm yumurtalar 21 gün boyunca inkübatör (VGS LCD-MIX9, Veyisoğulları, İstanbul, Türkiye) içinde inkübatörün suyu üç günde bir eklenmek koşuluyla kuluçkaya bırakıldı. Deney grubundaki yumurtalara 1.günde 0.1 ml serum fizyolojikte çözülmüş 1000 mikrogram Alüminyum Sülfat, Sham grubundaki yumurtalara sadece 0,1 ml serum fizyolojik verildi ve kontrol grubu yumurtalara ise herhangi bir uygulama yapılmadı. 21. günde yumurtalar kırıldı ve terme ulaşan yenidoğan civcivler 22. günde 50mg/kg Ketamin, 5mg/kg Xylazine anestezisi ile uyutulularak dekapite edilmek suretiyle sakrifiye edildi. Hayvanlar açılarak karaciğerleri iki ayrı lob olarak çıkarılıp, -30°C 'de donduruldu. Er-

tesi gün histoloji için bir lob alınarak %10'luk formaldehidde 3 gün bekletildi ve rutin histolojik doku takibinden sonra karaciğerler parafine gömüldü ve $7\ \mu\text{m}$ 'lik parafin kesitler Hematoksilin – Eosin boyasıyla boyanarak görüntüleri değişik mikroskop (Olympus BX51, Tokyo,) büyütmelerinde bir bilgisayar monitörüne (Samsung, SYNC Master 710V, Slovakia) bir CCD kamera (VITEC VCC3277, İstanbul, Turkey) yardımıyla aktararak resimleri çekildi ve histolojik incelemeler tamamlandı.

Biyokimyasal parametre araştırması için ayrılan karaciğer lobları bir hafta derin dondurucuda bekletildikten sonra gruplarda karaciğer oksidatif reaksiyon göstergeleri olan Malondialdehit ve Glutatyon düzeyleri çalışıldı..

Malondialdehid (MDA) ölçümleri:

1. MDA düzeyleri Ohkawa(23) tarafından belirlenen işlemle saptandı. Dokuların buzu çözüldükten sonra herbir doku tartıldı ve 0.15 N potasyum klorür solusyonu kullanılarak on kez homojenize edildi ve 0.4 ml homojenize doku 1.5 ml tiyobarbitürik asit (%0.8), 1.5 ml asetik asit (pH 3.5, %20) ve 0.2 ml sodyum dodesil sülfat (%8.1) ile karıştırıldı. Bu karıştırmayı takiben tüm örnekler ve standartlar 100°C 'de bir saat ısıtıldı. Absorbans $532\ \text{nm}$ 'de kaydedildi ve standartlarla karşılaştırıldı.

Glutatyon (GSH) ölçümleri:

2. GSH tahmini Moron ve ark. (24) tarafından tanımlanan işlemin bir modifikasyonu ile tamamlandı. Bu modifikasyon: 0.15 N potasyum klorürle dokuların homojenizasyonundan sonra, 0.5 ml homojenat 3 ml deproteinizasyon solusyonu (sodyum klorür, metafosfo-

rik asit, EDTA and distile su) ve 1.5 ml potasyum klorür solusyonuyla karıştırıldı. Her örnek 1000 g / 5 dakika santrifüje edildi, ve 0.5 ml supernatant 2 ml of Na₂HPO₄ ve 0.5 ml Ellman reaktifine (DTNB; dithiyodinitrodibenzoyik asit, sodyum sitrat, distile su) eklendi. Supernatantların absorbanası 412 nm'de kaydedildi ve standartlarla karşılaştırıldı.

Hayvanların bakımı ve tüm deneysel işlemler ABD Sağlık ve İnsan Hizmetleri Departmanı'nın yayınladığı Deney Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Rehberi'ne göre yapıldı. Buna ek olarak Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan etik izin alındı.

İstatistiksel Analiz:

MDA ve GSH düzeylerinin istatistiksel değerlendirilmesinde Kruskal Wallis Varyans Analizi, Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanılmıştır. MDA değerleri üç gruba göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (P=0.006). Bu farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığına bakıldığında (1. ve 2. grubun) 3. gruptan farklı olduğu bulunmuştur.

GSH değerleri üç gruba göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (P=0.002). Bu farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığına bakıldığında 1. kontrol grubunun ve 2. sham grubunun 3. Alüminyum grubundan anlamlı olarak farklı olduğu bulunmuştur.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

| | 1:kontkc, 2:shamkc, 3:alimunkc | N | Mean Rank |
|---------|--------------------------------------|----|-----------|
| MDACONS | 1 | 7 | 7,57 |
| | 2 | 8 | 9,38 |
| | 3 | 7 | 17,86 |
| | Total | 22 | |
| GSHCONS | 1 | 7 | 17,00 |
| | 2 | 8 | 12,38 |
| | 3 | 7 | 5,00 |
| | Total | 22 | |

Test Statistics

| | MDACONS | GSHCONS |
|-------------|---------|---------|
| Chi-Square | 10,128 | 12,181 |
| df | 2 | 2 |
| Asymp. Sig. | ,006 | ,002 |

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: 1:kontkc, 2:shamkc, 3:alimunkc

NPar Tests(mdacons'da farklılık gösteren gruplar; 1-3,2-3)

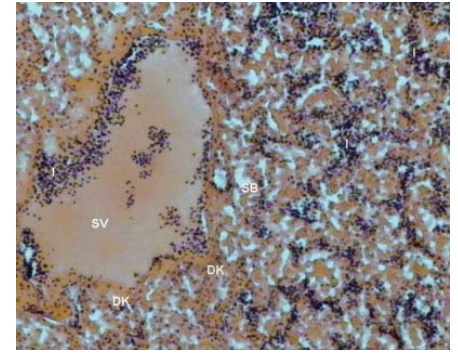
Tablo 1. Her üç grupta Malondialdehit ve Glutasyon düzeyleri

| | MDA | GSH |
|-----------|-----|------|
| Kontrol | 220 | 45,2 |
| Kontrol | 138 | 56,8 |
| Kontrol | 292 | 53,3 |
| Kontrol | 252 | 50 |
| Kontrol | 237 | 60,2 |
| Kontrol | 358 | 38,2 |
| Kontrol | 373 | 33,4 |
| Sham | 350 | 34,2 |
| Sham | 337 | 23 |
| Sham | 377 | 28,9 |
| Sham | 413 | 31,8 |
| Sham | 281 | 61 |
| Sham | 244 | 45,1 |
| Sham | 176 | 22,9 |
| Sham | 202 | 52,9 |
| Alüminyum | 559 | 20,3 |
| Alüminyum | 471 | 30,4 |
| Alüminyum | 315 | 10,6 |
| Alüminyum | 378 | 22 |
| Alüminyum | 388 | 28,5 |
| Alüminyum | 425 | 24,6 |
| Alüminyum | 459 | 22,5 |

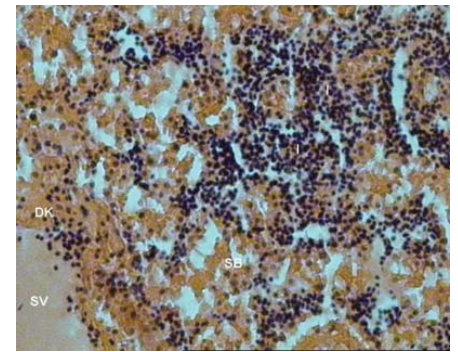
Bulgular

Histoloji

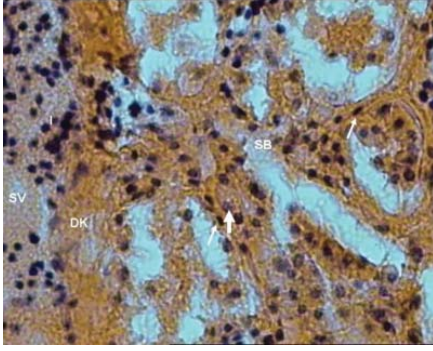
Alüminyum verilen grupta term civ-civ karaciğerlerinde periasinar ve sinüzoidal boşluklarda yaygın lenfosit infiltrasyonları, sinüzoidlerde genişleme ve sinüslerin radyal dizilimlerinde bozulma, santral ven duvarında kalınlaşma, hepatositlerde sitoplazmik kayıp ve yer yer eozinofilik görünümlü küçük hepatositler ile elipsoid şekilli ve çevrelerinde boşluklar bulunan nukleuslar görüldü (Şekil 1-4).



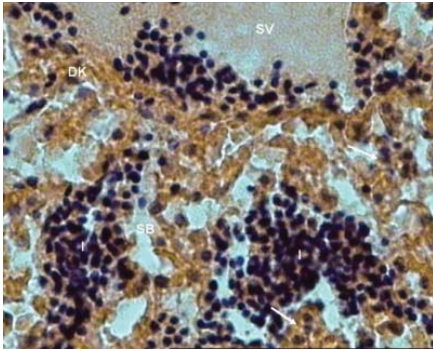
Şekil 1: Alüminyum grubunda karaciğerde bozulmuş santral ven yapısı (SV), duvarında kalınlaşma (DK) ve yaygın sinüzoidal bozulma (SB) ve inflamasyon (I) (Hematoksilen Eosin, 10X)



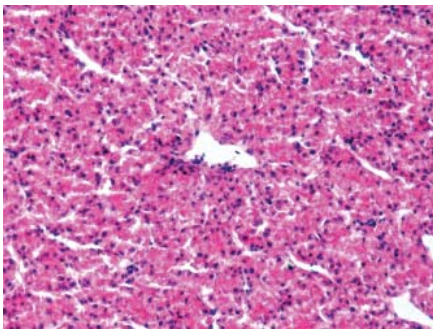
Şekil 2: Alüminyum grubunda karaciğerde bozulmuş santral ven duvarı yapısı ve kalınlaşması (DK) ve yaygın sinüzoidal bozulma (SB), inflamasyon (I) ve hepatositler eozinofilik görünümde (Hematoksilen Eosin, 20X)



Şekil 3: Alüminyum grubunda karaciğerde bozulmuş santral ven yapısı(SV) ve yaygın sinuzoidal bozulma (düzensizlik ve aşırı genişleme) (SB), inflamasyona (I) ek olarak hepatositlerde yapısal bozukluklar (ince oklar) ve dejeneratif bir hepatosit (kalın ok) (Hematoksilen Eosin, Büyütme 40 X)



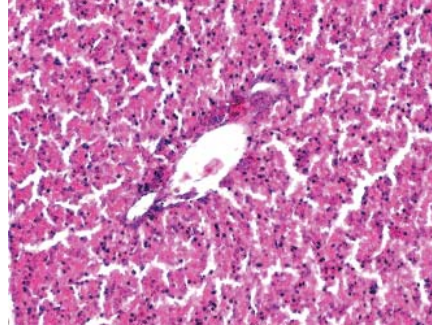
Şekil 4: Alüminyum grubunda karaciğerde bozulmuş santral ven yapısı (SV) ve yaygın sinuzoidal bozulma (keseleşme) (SB) ve inflamasyona (I) ek olarak hepatositlerde yapısal bozukluklar (nükleuslar belirsizleşmiş, soluk görünümlü) (oklar) (Hematoksilen Eosin, 40X)



Şekil 5: Kontrol grubunda normal santral ven yapısı ve normal sinuzoidal yapı ve ışınal dizilim. Hepatosit nükleusları son derece belirgin boyanmış (Hematoksilen Eosin, 20 X)

Kontrol grubunda herhangi bir patoloji izlenmemekte olup sinüzoidler normal ışınal dizilime sahipti, santral verip duvar yapısı normal görünüme sahip olup, hepatositlerde de herhangi bir patoloji gözlenmedi ve çekirdekler son derece belirgin boyanmıştı. (Şekil 5)

Sham grubunda değişik büyütmelelerde gözlenen karaciğer dokusu kontrol grubundan farklılık göstermemekte olup, sinüzoidler normal ışınal dizilime sahipti, santral verip duvar yapısı normal görünüme sahip olup, hepatositlerde de herhangi bir sitoplazmik ve çekirdek yapısında patoloji saptanma-



Şekil 6: Sham grubunda normal santral ven yapısı ve normal sinuzoidal yapı (Hematoksilen Eosin, 20 X)

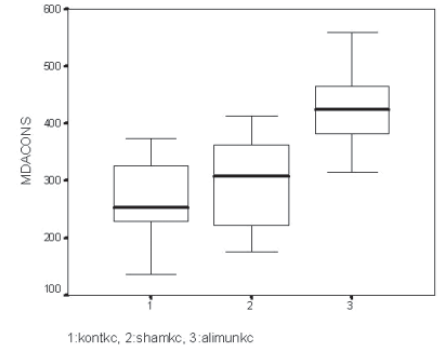
mıştır ve çekirdekler daha belirgin boyanmıştı (Şekil 6).

Biyokimyasal sonuçlar:

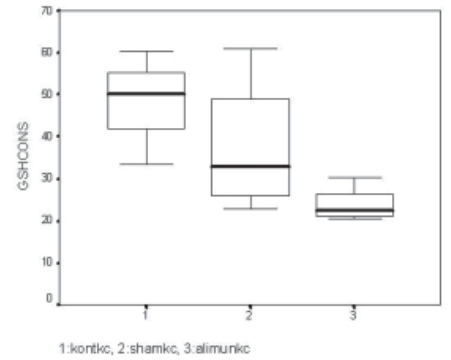
Alüminyum'un histolojik olarak neden olduğu inflamatuvar yanıtın yanısıra muhtemel oksidatif hasarın bir göstergesi olan Malondialdehit (MDA) ve Glutasyon (GSH) düzeyleri nmol/g doku olarak Tablo 1'de ayrıca grafikleri Şekil 7 ve 8'de gösterilmektedir.

Tartışma

Al yeryüzünde en çok bulunan üçüncü metaldir ve beyine, karaciğere, kemiklere ve hematopoietik siste-



Şekil 7: Çalışılan gruplarda term civciv karaciğer dokusu oksidatif hasarının bir göstergesi olan MDA konsantrasyon düzeyleri (nmol/gram). Alüminyum grubundaki artmış oksidasyonun sonucu anlamlı MDA konsantrasyon artışı izlenmektedir.



Şekil 8: Çalışılan gruplarda term civciv karaciğer dokusu oksidatif hasarının bir göstergesi olan GSH konsantrasyon düzeyleri (nmol/gram). Alüminyum grubundaki artmış oksidasyonun sonucu anlamlı GSH konsantrasyon azalması izlenmektedir.

me toksiktir(25). Sayısı çok fazla olmasa da Al'un yaratmış olduğu fizyopatoloji ile ilgili olarak bir çalışmada Al'un mikromolar düzeylerde dahi hepatosit kromatin yapısında kayda değer değişiklikler yarattığını(26) Snyder ve ark ise Al'un plazma membranındaki sitoskeletal proteinlere bağlandığını ve bunun bariyer geçirgenliğini bozarak hepatosit ölümüne yol açtığını öne sürdüler(27). Diğer bir çalışmada ise temelde Al'un hücrel birikimle mitokondriyonların fonksiyonunu etkilediği gösterilmiştir. Mitokondriyon iç zarı ile Al'un etkileşiminin reaktif oksijen türlerinin açığa çıkmasını sağladığı

ve oksidatif hasara yol açtığı gösterilmiştir(28).

Çalışmamızda pek çok organda mekanizmasının tam olarak belirlenemediği Al hasarının, deney grubunda görülen term civciv karaciğerinde histolojik masif inflamasyon, istatistiki olarak belirgin oksidatif hasarın göstergesi olan MDA yüksekliği ve reaktif oksijen türlerini yok etme görevine sahip olan(29) GSH'nun tükenme belirtilerine yol açması literatürdeki daha önceki çalışmaları bu kez civcivlerde doğrular nitelikte gözükmemektedir. Abubakar ve ark ile Katyal ve ark yaptığı çalışmalarda Al uygulamasının yüksek karaciğer reaktif oksijen türleri düzeyiyle birlikte azalmış gultasyon düzeylerine yol açtığı gösterilmiştir(30,31). Bir diğer çalışmada kültürlenmiş hepatositlerde hücrel Al birikiminin peroksidatif hasarı indüklediği

ve hepatositlerde geç gelişen(32) dokuda malondialdehid (MDA) artışı ve birikimine neden olduğu ve antioksidanların bu etkileri ortadan kaldırdığı gösterilmiştir(33).

Çalışmamızda olduğu gibi gelişimsel döneme etkili olabilecek Al'un toksik etkisine karşı herhangi bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır ancak özellikle erişkinlerde örneğin dializ hastalarında görülen Al birikimi ve sonuçta yarattığı toksik etkilere karşı desferrioksamin kullanılmaktadır. Ancak bu tedavi pek çok istenmeyen yan etkiye sahip olup sadece intravenöz veya deri altı kullanılabilir(34,35). Tedavide değil ama Al'un toksik etkilerinden korunmada vitamin E ve Askorbik asit yanında Tiron ve EDTA'nın da sistemik koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir(36).

Bu çalışmamızda ilk kez fertilize Ross

cinsi besi tavuğu yumurtaları hava boşluklarına postnatal 1.günde enjekte edilen toksik düzeyde Alüminyum Sülfat'ın terme ulaşan civcivlerde karaciğerde yaygın yoğun inflamatuvar ve hücrel hasara yol açtığı bunun yanında oksidatif reaksiyon ve hasarın göstergesi olan oldukça yüksek MDA düzeyi ve oksidatif reaksiyon sonrası meydana gelen oksidatif radikallerin tüketilmesinden sorumlu olan GSH'ın tükenmekte olan düzeyleri gösterilmiştir.

Teşekkür

Yazarlar Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na 2003TPF004 numaralı desteği ve Sayın Vet.Dr.Himmet Arslan'a Abalı Holding Broiler biriminden fertilize yumurtaların sağlanması için teşekkür ederler.

KAYNAKLAR

1. Becaria A, Campbell A, Bondy SC. Aluminum as a toxicant. *Toxicol Ind Health* 2002 Aug;18:309-20.
2. Schetinger MRC, Morsch VM, Bohrer D. Aluminum: Interaction with nucleotides and nucleotidases and analytical aspects of 1st determination. *Struct Bond* 2002; 104: 99-137.
3. Williams RJP. What is wrong with aluminium? The J.D. Birchall Memorial Lecture. *J Inorg Biochem* 1999; 76: 81-88.
4. Yokel RA. Brain uptake, retention and efflux of aluminum and manganese. *Coord Chem Rev* 2002; 228: 97-113.
5. Osinska E, Kanoniuk D, Kusiak A. Aluminium hemotoxicity mechanisms. *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska [Med]* 2004; 59: 411-416.
6. Yokel RA, Meurer KA, Skinner TL, et al. The 3-hydroxypyridin-4-ones more effectively chelate aluminum in a rabbit model of aluminum intoxication than does desferrioxamine. *Drug Metab Dispos* 1996; 24: 105-111
7. Schetinger MR, Bonan CD, Morsch VM, et al. Effects of aluminium sulphate on delta-aminolevulinatase dehydratase from kidney, brain, and liver of adult mice. *Braz J Med Biol Res.* 1999; 32, 761-766.
8. Kutlubay R, Oğuz EO, Güven C, et al. Histological and ultrastructural evidence for protective effects on aluminium-Induced kidney damage by intraperitoneal administration of alpha tocopherol. *Int J Toxicol* 2007; 26:95-101.
9. Kutlubay R, Oğuz EO, Can B, et al. Vitamin E protection from testicular damage caused by intraperitoneal aluminium. *Int J Toxicol* 2007; 26:297-306.
10. Yousef MI. Aluminium-induced changes in hemato-biochemical parameters, lipid peroxidation and enzyme activities of male rabbits: protective role of ascorbic acid. *Toxicology.* 2004 Jun 1;199:47-57.
11. Mahieu S, Millen N, González M, et al. Alterations of the renal function and oxidative stress in renal tissue from rats chronically treated with aluminium during the initial phase of hepatic regeneration. *J Inorg Biochem* 2005 Sep;99:1858-64
12. Kaneko N, Yasui H, Takada J, et al. Orally administered aluminum-mal-tolate complex enhances oxidative stress in the organs of mice. *J Inorg Biochem* 2004 Dec;98:2022-31
13. Osinska E, Kanoniuk D, Kusiak A. Aluminium hemotoxicity mechanisms. *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska [Med]* 2004;59:411-6.
14. Han J, Han J, Dunn MA. Effect of dietary aluminum on tissue nonheme iron and ferritin levels in the chick. *Toxicology* 2000 Jan 3;142:97-109.
15. Contini Mdel C, Ferri A, Bernal CA, et al. Study of iron homeostasis following partial hepatectomy in rats with chronic aluminum intoxication. *Biol Trace Elem Res* 2007 Jan;115:31-45.
16. Zaman K, Zaman A, Batcabe J. Hematological effects of aluminum on living organisms. *Comp Biochem Physiol C* 1993 Oct;106:285-93.
17. Whihelm M, Jaeger DE, Schüll-Cab-litz H, et al. Hepatic clearance and retention of aluminium: studies in the isolated perfused rat liver. *Toxi-*

- col Lett Volume 89, 1996 Dec³¹; 257-263
18. Kutlubay R, Oğuz EO, Abban G, et al. Amelioration of aluminium-induced liver damage by vitamin E. *Saudi Med J* 2007; Vol. 28: 197-200
 19. Han J, Han J, Dunn MA. Effect of dietary aluminum on tissue nonheme iron and ferritin levels in the chick. *Toxicology* 2000 Jan 3;142:97-109.
 20. Gonzalez MA, Alvarez Mdel L, Pisani GB, et al. Involvement of oxidative stress in the impairment in biliary secretory function induced by intraperitoneal administration of aluminum to rats. *Biol Trace Elem Res* 2007 Jun;116:329-48.
 21. Golub MS, Gershwin ME, Donald JM, et al. Maternal and developmental toxicity of chronic aluminum exposure in mice. *Fundam and Appl Toxicol* 1987 April; 8: 346-357.
 22. Ebina Y, Okada S, Hamazaki S, et al. Liver, kidney, and central nervous system toxicity of aluminum given intraperitoneally to rats: A multiple-dose subchronic study using aluminum nitrilotriacetate. *Toxicol and Appl Pharmacol* 1984 Sept 15; 75: 211-218.
 23. Okhawa H, Ohishi N. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thio-barbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
 24. Moron MS, Depierre JW, Mannervik B. Level of glutathione, glutathione reductase and glutathione-S-transferase activity in rat lung and liver. *Biochem Biophys Acta* 1979; 82: 67-78.
 25. Stacchiotti A, Rodella LF, Ricci F, et al. Stress proteins expression in rat kidney and liver chronically exposed to aluminium sulphate. *Histol Histopathol* 2006 Feb;21:131-40.
 26. Walker PR, LeBlanc J, Sikorska M. Effects of aluminum and other cations on the structure of brain and liver chromatin *Biochem* 1989; 28: 3911-3915.
 27. Snyder JW, Serroni A, Savory J, et al. The absence of extracellular calcium potentiates the killing of cultured hepatocytes by aluminum maltolate. *Arch Biochem Biophys* 1995 Jan 10; 316:434-42.
 28. De Marchi U, Mancon M, Battaglia V, et al. Influence of reactive oxygen species production by monoamine oxidase activity on aluminum-induced mitochondrial permeability transition. *Cell Mol Life Sci* 2004 Oct;61:2664-71.
 29. Murakami K, Yoshino M. Aluminum decreases the glutathione regeneration by the inhibition of NADP-isocitrate dehydrogenase in mitochondria. *J Cell Biochem.* 2004 Dec 15; 93:1267-71.
 30. Abubakar MG, Taylor A, Ferns GA. Aluminium administration is associated with enhanced hepatic oxidant stress that may be offset by dietary vitamin E in the rat. *Int J Exp Pathol.* 2003 Feb; 84:49-54.
 31. Katyal R, Desigan B, Sodhi CP, et al. Oral aluminum administration and oxidative injury. *Biol Trace Elem Res* 1997 May;57:125-30.
 32. Fulton B, Jeffery EH. The temporal relationship between hepatic GSH loss, heme oxygenase induction, and cytochrome P450 loss following intraperitoneal aluminum administration to mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994 Aug; 127:291-7.
 33. Abreo K, Sella M, Alvarez-Hernandez X, et al. Antioxidants prevent aluminum-induced toxicity in cultured hepatocytes. *J Inorg Biochem.* 2004 Jun; 98:1129-34.
 34. Missel JR, Schetinger MR, Gioda CR, et al. Chelating effects of novel pyrimidines in a model of aluminium intoxication. *J Inorg Biochem* 2005; 99: 1853-1857.
 35. Nicholas JCB, Dawes PT, Davies JD, Freemon AJ. Persisting aluminium-related bone disease after cadaveric renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 202-204
 36. Swain C, Chainy GB. In vitro stimulation of chick brain lipid peroxidation by aluminium, and effects of tiron, EDTA and some antioxidants. *Indian J Exp Biol* 2000 Dec; 38: 1231-5.