

Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Hepatotoksisitede Oksidatif Stres ve Karaciğer Hasarına  
Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi

Özge Acar

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Biyoloji Anabilim Dalı

Nisan 2015

Protective Effect of Selenium Against Oxidative Stress and Liver Damage in  
Cyclophosphamide Induced Hepatotoxicity in Rat

Özge Acar

**MASTER OF SCIENCE THESIS**

Department of Biology

April 2015

Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Hepatotoksisitede Oksidatif Stres ve Karaciğer Hasarına  
Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi

Özge ACAR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Genel Biyoloji Bilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. Adnan AYHANCI

Nisan 2015

## ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Özge Acar' ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Hepatotoksisitede Oksidatif Stres ve Karaciğer Hasarına Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr. Adnan Ayhancı

**İkinci Danışman** :

**Doktora Tez Savunma Jürisi:**

**Üye:** Doç. Dr. Adnan Ayhancı

**Üye:Prof.** Dr. Varol Şahintürk

**Üye:Prof.** Dr. Fatma Sultan Kılıç

**Üye:Prof.** Dr. Mehtap Kutlu

**Üye:** Doç. Dr. Figen Çalışkan

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN

Enstitü Müdürü

## ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım klavuzuna göre Doç.Dr.Adnan AYHANCI danışmanlığında hazırlamış olduğum''Sıçanlarda Siklofosamid Nedenli Hepatotoksisitede Oksidatif Stres ve Karaciğer Hasarına Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi'' başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğime; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 05/05/2015

Özge ACAR

İmza

## ÖZET

Siklofosfamid (CP) klinikte kanser ve non-malignant hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan, yüksek derecede etkili, alkilleyici sitotoksik bir ilaçtır. CP'nin antitümoral etkinliği yüksek dozda kullanılmasına bağlıdır. Ancak yüksek doz CP kullanımı bir veya birden fazla dokuda sitotoksositeye neden olmaktadır. Selenyum (Se), güçlü antioksidan (AO) ve hücre koruyucu özellikleri olduğu bilinen, canlı organizmalar için esansiyel bir iz elementtir. Bu çalışmada CP nedenli hepatotoksitenin önlenmesinde Se'un olası koruyucu etkisi araştırılmıştır.

Sprague-Dawley cinsi 42 adet erkek sıçan her grupta 7 hayvan olacak şekilde 6 gruba bölündü (kontrol, 150 mg/kg CP, 0.5 mg/kg Se, 1 mg/kg Se, 150+0.5 mg/kg CP+Se, 150+1 mg/kg CP+Se). Se'un karaciğerdeki koruyuculuk derecesini belirlemek için serum aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT) ve alkalin fosfataz (ALP) düzeyleri ölçüldü. Ayrıca karaciğer dokusu histolojik olarak da incelendi. Sadece CP uygulanan grupta serum AST (%226), ALT (%145) ve ALP (%88) değerlerinde artış gözlemlendi. CP ile birlikte verilen Se'un her iki dozu da serum AST, ALT ve ALP değerlerini önemli oranda azalttı ( $p<0.001$ ). CP uygulanan grupta hepatositlerde sitoplazmada bulanıklaşma ve homojenite kaybı görüldü ancak CP ile birlikte verilen Se'un her iki dozu da bu hasarları önemli oranda azalttı. Bununla birlikte 1mg/kg Se CP nedenli karaciğer hasarının önlenmesinde 0.5 mg/kg Se'a göre daha etkili bir koruma sağladı.

Verilerimiz Se'un oldukça etkili bir AO ve hücre koruyucu olduğunu göstermektedir. Bu nedenle kemoterapi protokollerinde AO ilaçların yan etkilerinin azaltılmasında etkili bir aday olabilir.

**Anahtar kelimeler:** Siklofosfamid, oksidatif stres, hepatotoksosite, selenyum, sitoprotektivite, sıçan.

## SUMMARY

Cyclophosphamide (CP) is a highly effective alkylating cytotoxic drug widely used in the treatment of cancer and non-malignant diseases. The antitumoral efficiency of CP comes about when it is used in high doses. However, high doses of this drug have a tendency to result in cytotoxicity in more than one tissues. Selenium (Se), is known to have potent antioxidant (AO) and cytoprotective properties, is an essential trace element for living organisms. The present study aims to investigate the possible protective effect of Se on CP-induced hepatotoxicity.

A total of 42 male Sprague-Dawley rats were divided into 6 groups of 7 animals each (control, 150 mg/kg CP, 0.5 mg/kg Se, 1 mg/kg Se, 150+0.5 mg/kg CP+Se, 150+1 mg/kg CP+Se). In order to determine the protective effect of Se upon the liver, the levels of aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP), were determined. Furthermore, the liver tissues were analysed histologically. Only in the group treated with CP serum AST (%226), ALT (%145) and ALP (%88) were observed increase in value. Both doses of Se with CP in serum AST, ALT and ALP values decreased significantly ( $p<0.001$ ). In the group treated with CP hepatocyte cytoplasm blurring and loss of homogeneity was observed but both doses of Se are provided with CP was also significantly reduces the damage. However, Se of 1 mg/kg was determined to be more effective in the prevention of liver damage than was Se of 0.5 mg/kg.

Our data suggest that Se is a highly effective AO substance with a cell-protecting effect. Therefore, Se could serve as effective agent that could lessen the adverse effects of anti-cancer drugs in the course of chemotherapy protocols.

**Keywords:** Cyclophosphamide, oxidative stress, hepatotoxicity, selenium, cytoprotectivity, rat.

## TEŞEKKÜR

Bu tezin gerekleŐmesinde bana danıŐmanlık eden, beni yÖnlendiren ve her tÖrlÖ olanağı sağlayan danışman hocam Doç. Dr. Adnan AYHANCI' ya en içten duygularım ile teŐekkÖr ederim.

Tez çalıŐmalarım sÖresince histolojik iŐlemlerin yorumlanmasında çok değerli bilgilerinden ve gÖrÖŐlerinden faydalandığım hocam Prof. Dr. Varol ŐAHİNTÖRK' e çok teŐekkÖr ederim.

Tez çalışmamda gerek deneysel çalışmamda gerekse istatistik iŐlemlerde yardımlarını esirgemeyen ArŐ. Gör. Dr. Ahmet MUSMUL' a teŐekkÖrlerimi sunarım.

Tez çalıŐmam boyunca bilgilerinden faydalandığım ve hep desteğini hissettiğim çok değerli ÖĞr. Gör. Dr. Sibel GÖNEŐ' e teŐekkÖrlerimi sunarım.

Tez çalıŐmalarımı beraber yÖrÖttÖĞÖmÖz ve her daim yanımda olan canım arkadaşlarım Pınar KARASATI ve Nilhan HEYBELİ' ye çok teŐekkÖr ederim.

Hayatımın her anında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen sevgili annem ve babama ve de canım kardeŐime çok teŐekkÖr ederim.



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	<b>vi</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>vii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>TABLO DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
2.1. Serbest Radikaller .....	4
2.1.1. Oksidatif stres ve buna bağlı gelişebilen hastalıklar .....	5
2.1.2. Serbest oksijen radikallerinin DNA üzerine etkileri ve kanserle ilişkisi .....	6
2.2. Antioksidanlar .....	8
2.2.1. Antioksidan kaynakları .....	9
2.2.1.1. Endojen kaynaklı antioksidanlar .....	9
2.3. Eksojen kaynaklı antisoksidanlar .....	15
2.3.1. Karaciğer .....	17
2.3.2. Karaciğer enzimleri .....	20
2.3.2.1. Aminotransferazlar .....	20
2.3.2.2. Aminotransferazların etki mekanizmaları .....	21
2.3.2.3. Aspartat transaminaz .....	22
2.3.2.4. Alanin transaminaz .....	22
2.3.2.5. Alkalen fosfataz .....	23
2.4. Karaciğer Dokusu ve Serbest Radikaller .....	24
2.5. Kanser Kemoterapisi ve Karaciğer .....	25
2.6. Siklofosamid .....	26
2.7. Selenyum .....	29
2.7.1. Selenyumun biyolojik sistemlerdeki önemi .....	29

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
2.7.2. Selenyum ve Kanser .....	31
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>	<b>33</b>
3.1. Kullanılan Gereçler .....	33
3.2. Yöntemlerin Uygulanması .....	33
3.2.1. Deney hayvanlarının hazırlanması .....	33
3.2.2. Siklofosamid ve selenyum uygulaması .....	34
3.3. Kan Alımı ve Serum Örneklerinin Hazırlanması .....	36
3.3.1. AST, ALT ve ALP değerlerinin belirlenmesi .....	36
3.4. Histolojik Değerlendirmeler .....	36
3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler .....	36
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>38</b>
4.1. Biyokimyasal Bulgular .....	38
4.2. Histolojik Bulgular .....	46
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>49</b>
<b>6. KAYNAKLAR DİZİNİ .....</b>	<b>53</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sekil No

### Sayfa

2.1. Glutasyonun redoks döngüsü .....	12
2.6.1. Siklofosamid metabolizması .....	28
2.6.2. ACR'nin üroepitelyal hücreye girmesi, reaktif oksijen türevlerinin üretimi ve iNOS aktivasyonunun artmasıyla başlayan ve DNA hasarıyla sonuçlanan süreç .....	29
4.1.1. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP verilen deney grupları ve kontrol grubunun AST seviyeleri .....	43
4.1.2. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP verilen deney grupları ve kontrol grubunun ALT seviyeleri .....	44
4.1.3. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP verilen deney grupları ve kontrol grubunun ALP seviyeleri .....	45
4.2.1. Kontrol gruplarına ait karaciğer kesitleri .....	48
4.2.2. CP verilen gruplara ait karaciğer kesitleri .....	49

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge No</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Başlıca enzimatik endojen antioksidanlar .....	10
2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar .....	14
2.3. Vitamin antioksidanlar .....	15
2.4. İlaç olarak kullanılan antioksidanlar .....	17
3.2.1.1. Uygulanan siklofosfamid ve selenyumun gruplara göre dağılımı .....	35
3.2.1.2. Siklofosfamid ve selenyumun gruplara uygulama şekli .....	35
4.1.1. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ile kontrol gruplarının AST, ALT ve ALP ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması .....	39
4.1.2. 0.5 mg/kg Se ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ve bunların kontrol gruplarının AST, ALT ve ALP ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması .....	39

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklamalar</u>
mL	Mililitre
mg	Miligram
kg	Kilogram
kDa	Kilodalton
IU/L	International unit/litre
NO	Nitrik oksit
ONOO <sup>-</sup>	Peroksinitrit
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
O <sub>2</sub>	Singlet oksijen
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit
ROO	Peroksi
ROOH	Hidroperoksit
CCl <sub>4</sub>	Karbontetraklorür
CCl <sub>3</sub>	Triklormetil

## **SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)**

<b><u>Kısaltmalar</u></b>	<b><u>Açıklamalar</u></b>
CP	Siklofosfamid
Se	Selenyum
AO	Antioksidan
SOR	Serbest Radikaller/Serbest Oksijen Radikalleri
ROT/ROB	Reaktif Oksijen Türleri/Reaktif Oksijen Bileşikleri
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon S-transferaz
MDA	Malondialdehit
AST	Aspartat transaminaz (SGOT)
ALT	Alanin transaminaz (SGPT)
ALP	Alkale fosfataz
LDH	Laktat dehidrogenaz
GGT	Gama glutamil transpeptidaz
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
RES	Retikuloendotelial sistem

## **SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)**

VOD	Veno oklüziv hastalık
KHT	Kök hücre nakli
AML	Akut miyelositik lösemi
NOS	Nitrik oksit sentaz

## 1.GİRİŞ

Kanser hemen her ülkede mortalite ve morbidite oranları açısından önde gelen ve ölüm nedenleri olarak kalp damar hastalıklarından sonra 2. sırada yer alan bir sağlık sorunudur (Strensward and Clark, 2004; Jemal et al., 2004). Kanser büyüme özellikleri bozulmuş hücrelerin klonal yayılımıdır ve somatik genetik hastalıkların en yaygın ve aynı zamanda en karmaşık olanıdır (Futreal et al., 2001). Günümüzde kanser tedavisinde cerrahi girişim, ilaçla tedavi (kemoterapi) ve ışınla tedavi en çok kullanılan tedavi yöntemleridir. Neoplastik hücreler, önce cerrahi olarak veya radyasyon tedavisi ile azaltılır veya gelişimi yavaşlatılır. Bunu kemoterapi, immunoterapi veya bu tedavi yöntemlerinin birlikte kullanılması takip eder (Gilman and Goodman, 1991). Kanser kemoterapisinin esası; hastanın normal hücrelerine zarar vermeden tümör hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya mümkünse onları yok etmektir. Ancak antineoplastik ilaçların kanser hücresine karşı olan seçicilikleri, antibiyotiklerin bakteri hücresine karşı olan seçiciliklerinden daha azdır. Çünkü malign hücre ile normal insan hücresi arasında kalitatif bakımdan fazla fark yoktur; mevcut fark daha çok kantitatif yöndedir. Antineoplastik ilaçlar vücutta patolojik biçimde çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de yok ederler. Bu nedenle çoğu kanser ilacının normal hücre ve kan dokusu üzerine de yan etkileri vardır (Kintzel, 2001). Kanser hastalarında antineoplastik kemoterapinin gelişmesi ve destek tedavisi ile mortalite ve morbidite oranları önemli ölçüde azalmıştır. Ancak yüksek doz sitotoksik ilaçların kullanılması ve kanser hastalarının daha uzun süre yaşaması ilaçların yan etkilerini de artırmıştır (Meister and Meadows, 1993).

Siklofosfamid (Cyclophosphamide = CP) klinikte kanser ve non-malignant hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan, yüksek derecede etkili, nitrojen mustard (azotlu hardal) tipi alkilleyici sitotoksik bir ilaçtır (Abraham et al., 2007; McEvoy et al., 2004). CP alkilleyici bir maddedir ve onun tümör hücresi öldürme aktivitesi esas olarak DNA alkilasyonundan kaynaklanmaktadır. CP karaciğerde aktif metaboliti olan fosforamid mustarda (phosphoramid mustard = PAM) ve akroleine (acrolein = ACR) dönüşerek etkinlik kazanır (McEvoy et al., 2004; Todorova et al., 2009). Tümör seçiciliği ve klinik kullanımda geniş spektruma sahip olmasına rağmen, CP'nin çoklu organ



toksitesine neden olduğu bilinmektedir (Desouza et al., 2000). CP'nin ilk yan etkileri 1960 yılında rapor edilmiştir (Coggings et al., 1960). CP'nin toksik etkisi aktif metaboliti olan ACR ile ilgilidir. ACR doku antioksidan (AO) savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda serbest oksijen radikali (SOR) oluşuma yol açar ve memeli hücreleri için mutajeniktir. ACR kaynaklı oluşan SOR; enzim, reseptör ve iyon pompaları gibi moleküllerle birleşerek onların işlevlerini bozarlar (Senthilkumar et al., 2006).

SOR'lar, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren, yüksek enerjili, kararlı olmayan bileşiklerdir. Oksijen insan yaşamı için vazgeçilmez olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri bedene yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir (Diplock, 1998). SOR'lardaki çiftlenmemiş elektronlar moleküle büyük bir reaktiflik kazandırarak protein, lipid, DNA, nükleotid ve koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Diplock, 1998). Karaciğer metabolik, boşaltım ve savunma gibi birçok fizyolojik fonksiyonları olan karmaşık bir organdır. Birçok ilaç karaciğer tarafından metabolize edilirken birçok hastalıkta karaciğer dokusu direkt veya dolaylı olarak etkilenir (Lawler et al., 1987; Al-Jumaily and Khaleel, 2012). AO'lar, SOR'ları, bir başka deyişle reaktif oksijen türlerini (ROT), uzaklaştıran ve bunlar tarafından oluşturulabilecek hasarları önleyen ajanlar olmaları nedeniyle birçok hastalığın önlenmesinde ve tedavisinde hayati öneme sahiptir (Elliot, 1999; Ratnam et al., 2006).

Selenyum (Se), hücreleri oksidatif strese karşı koruyan ve AO mekanizmada kilit rol oynayan esansiyel bir iz elementtir (Kim et al., 2003; Kieliszek et al., 2012; Zwolak and Zaporowska, 2012). Toprak ve gıdalarda küçük miktarlarda bulunan ve biyoyararlanımı kayda değer değişkenlik gösteren Se'un ana kaynağı dünya çekerdeğini örten ergimiş volkanik kayalık kütlelerdir (Orak et al., 2000). Biyolojik etkilerini SOR'lar tarafından verilen hücresel zararı önlemeye yardımcı olan, selenoproteinler yoluyla gösterir. Selenosisteinler, biyolojik pH' da anyonik halde bulunur ve bu sayede elektron alışverişi yoluyla biyolojik redoks reaksiyonlarının gerçekleşmesini sağlarlar (Rayman, 2000). Se, AO savunma mekanizmasının önemli bir üyesi olan glutatyon peroksidazın (GPx) yapısında bulunur ve onun kofaktörüdür (Akman et al., 2010).

Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulmuş CP nedenli karaciğer toksisitesine karşı, AO zellikleri bilinen Se'un olası sitoprotektif etkilerini histolojik incelemeler ve biyokimyasal yöntemlerle (aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT) ve alkale fosfataz (ALP) lmlerini yaparak) araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller (SOR), atomik orbitali üzerinde eşlenmemiş elektron taşıyan moleküllerdir (Halliwell, 1994; Young et al., 2001). SOR oluşumunun artması, oksidatif stresi tetiklemektedir. Temel olarak oksidatif stres, biyolojik sistemde prooksidanlarla AO'lar arasındaki dengenin, prooksidanlar lehine bozulması olarak tanımlanır (Bhuvaramurthy et al., 1996; Berk et al., 2008).

SOR'lar hücrede ekzojen ve endojen kaynaklara bağlı olarak oluşan, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, düşük molekül ağırlıklı moleküller olarak tanımlanırlar. Organizmalarda SOR'lar ve AO savunma sistemleri arasında doğal bir denge söz konusudur (Mercan, 2004).

Hücreler hafif oksidatif stresi tek başlarına tolere edebilseler de genellikle AO enzim sistemlerini aktive ederler. Ancak, hücre içi savunma sistemlerinin yeterli olmadığı durumlarda, oksidatif stresin tanımında belirtildiği üzere, reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species = ROS) ile AO'lar arasındaki denge bozularak oksidatif stres ortaya çıkar ve hücrede oksidan hasara duyarlı DNA, protein, karbonhidratlar ve lipitler gibi hücrel makromoleküller zarar görür (Halliwell and Gutteridge, 1989; Gutteridge, 1994; Berger, 2005; Wildburger et al., 2009). SOR'lar başlıca 3 yolla oluşur;

1. Kovalent bağların homolitik bölünmesiyle; Kovalent bağlı molekülün bölünme sonrasında her bir parçasında ortak elektronlardan bir kalır.

2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesiyle; Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden tek bir elektron kaybı sırasında dış orbitalinde ortaklanmamış elektron kalarak radikal formu oluşturur.

3. Normal bir moleküle elektron transferiyle; Radikal özelliği bulunmayan bir molekül, tek elektron transferi ile dış orbitalinde ortaklanmamış elektron içeren radikal formuna dönüşür (Cheesman and Slater, 1993; Wu and Cederbaum, 2003).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli SOR'lar oksijenden oluşan radikallerdir (Mates, 2000). Oksijen ve nitrojen molekülleri SOR kaynaklarıdır. Oksijen molekülünün kısmi indirgenmesinden ROS olan hidroksil (OH<sup>•</sup>) radikali ve süperoksit iyonu (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) oluşmaktadır.

Ayrıca tekli (singlet) oksijen ( $O_2$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) molekülleri radikal olmayan reaktif oksijen türevleridir. Oksijen kaynaklı olmayan diğer SOR'lar ise nitrik oksit (NO), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), lipilerin peroksidasyonu sırasında oluşan peroksi (ROO) ve karaciğerdeki karbon tetraklorür ( $CCl_4$ ) metabolizması sırasında oluşan triklorometil ( $CCl_3$ ) radikalidir (Halliwell, 1984; Södergen, 2000).

SOR'lar metabolizmada üretildikleri gibi, sigara içimi, uçucu madde solunumu, UV ışınları, radyasyon ve hava kirliliği gibi dış ve çevresel faktörler ile vücuttaki konsantrasyonları artmaktadır (Södergen, 2000). SOR'ların en iyi bilinen zararlı etkisi; hücre zarı yağ asitlerine ve lipoproteinlere saldırması ve lipid peroksidasyonu olarak bilinen bir zincir reaksiyonunu başlatmalarıdır. Lipid peroksidasyonunun ürünleri ileriki aşamalarda membran proteinlerinde hasara yol açarak yapısal ve fonksiyonel bozuklukların ortaya çıkmasına neden olur (Wu et al., 2003). Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar. İyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Moslen, 1994). Kemoterapi alan hastalarda, plazma lipid hidroperoksitleri ve MDA bileşiklerinin artması, kemoterapinin oksidatif strese yol açtığına işaret etmektedir (Clemens et al., 1997; Lin, 2002).

### **2.1.1. Oksidatif stres ve buna bağlı gelişebilen hastalıklar**

Oksidatif stres basit bir şekilde, bedenin AO savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan SOR üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Oksidatif stres, toksisitenin olası bir mekanizması olarak son on yıldır toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir. Oksidatif stres, lipidler, proteinler, enzimler, karbonhidratlar ve DNA gibi makromoleküllere zarar vererek; hücre zarı hasarına, parçalanmaya, DNA, enzim ve proteinlerde rastgele çapraz bağlanmalara ve DNA fragmentasyonu ve lipid peroksidasyonu ile hücre ölümüne neden olabilir.

Oksidatif stres; süperoksit anyon radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri tarafından başlatılır. Her iki reaktif oksijen türü de güçlü oksidanlardır, ancak dokularda oluşan zararlı reaksiyonlar sonucunda daha da tehlikeli oksidanlar haline dönüşebilmektedirler (Jain, 2006). SOR organizmada, enerjetik, reaktif ve metabolik olmak üzere üç ana mekanizmayla oluşmakta, metabolik reaksiyonlar en önemli SOR

kaynağı olarak karşımıza çıkmakta, oluşan SOR yüksek derecede reaktif olmalarından dolayı da hücrelerde zararlı etkiler meydana getirmektedirler. Her hücre için intrinsik oksidasyon ve AO'lar arasındaki dengenin fizyolojik sınırlarda tutulması organ ve dokular için önemlidir (Hassimotto et al., 2008; Cemeli et al., 2009; Pellegrini et al., 2009).

Oksidatif strese bağlı olarak lipidler, proteinler, enzimler, karbonhidratlar, ve DNA zarar görebilmekte, membranlardaki hasarın neticesinde DNA zincirlerinde rastgele kırılmalar ve bağlanmalar meydana gelebilmekte, enzim ve yapısal proteinlerin zarar görmesi hücrenin ölmesiyle sonlanabileceği gibi bu olgular kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar ile diyabet ve otoimmün bozuklukların gelişiminde moleküler temeli oluşturmaktadır. Bazı nörodejeneratif hastalıklarda önemli oranda kan-beyin engelini aşabilen AO'lara ihtiyaç vardır (Ratnam et al., 2006; Kusano and Ferrari, 2008; Pellegrini et al., 2009; Cemeli et al., 2009). Hava kirliliği, sigara kullanımı, kötü beslenme alışkanlıkları (alkol tüketimi, yetersiz ve kalitesiz beslenme), stres de eksojen ve endojen olarak SOR oluşumunu artırmaktadır. Organizmanın AO kapasitesinin yetersizliği durumunda, metabolik reaksiyonlar hücreler için zararlı olmakta ve önlenemeyen bu zararlı reaksiyonlar neticesinde deride akne ve kırıxıklık, premature yaşlanma, koroner damar hastalıkları, diyabet, Alzheimer, Parkinson ve değişik kanser türlerinin oluşmasına zemin hazırlamaktadır (Cornelli, 2009; Davidson and Decker, 2009; Kapoor et al., 2009).

### **2.1.2. Serbest oksijen radikallerinin DNA üzerine etkileri ve kanserle ilişkisi**

İyonize edici radyasyonla oluşan SOR'ların mutajenik etkilerinden dolayı DNA üzerinde önemli hasarlara neden olduğu bilinmektedir (Halliwell, 1994; Marnett, 2000). DNA'nın yarılması, DNA-protein çapraz bağları, purinlerin otooksidasyonu gibi bazı durumlar ROS'ların özellikle de hidroksil radikalının neden olduğu hasarlardır (Mates et al., 1999; Gümrükçüoğlu, 2009). Ayrıca aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, zardan geçerek hücre çekirdeğinde hasarlara yol açabilmektedir (Lunec and Blake, 1990; Ames et al., 1993; Cheesman and Slater, 1993; Halliwell, 1994). Eğer hidroksil radikali DNA'nın yakınlarında oluşursa purin ve primidin bazlarına etki ederek mutasyona neden olur. Tekli oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girerler. Gerek çevredeki ve gerekse bedene giren kimyasalların metabolize edilmesi sonuçta ortaya çıkan serbest

radikallerin hücreleri tahrip ettiği ve gen programlarını değiştirdiği gösterilmiştir (Hassun, 1983; Halliwell and Gutteridge, 1984).

SOR'ların neden olduğu mutasyon, kanserin başlama ve ilerlemesine neden olduğu gibi, oksidatif stres mutant hücre klonlarının yayılmasına ve çoğalmasına ve hücre ölümüne neden olur. Son çalışmalar, SOR benign tümörleri malin tümörlere dönüştürürken kanserin evresini de ilerlettiğini göstermiştir (Okada, 2002). Çeşitli kanser türlerinde ROS artışına bağlı DNA modifikasyonları bulunmuştur. Örneğin OH<sup>-</sup> radikali DNA'nın bütün bileşenleri ile deoksiriboz iskeleti, pürin ve pirimidin bazları ile reaksiyona girebilir. Adenin ve guanine etkisi sonuca halkada açılma, replikasyonda blok oluşması ve sonuç olarak nokta mutasyonları meydana gelebilir (Willcox et al., 2004).

SOR üreten birçok bileşiğin, in vivo olarak tümörleri ilerlettikleri gösterilmiştir (Halliwell and Gutteridge, 1989; Akkuş, 1995). Peroksid ve hidroperoksidler de aynı etkiyi gösterirler. SOR'lar kanserin başlangıç, gelişme ve ilerleme safhalarında etkili olmakla beraber bu etki ilerleme safhasında daha belirgin, diğer safhalarda ise nisbeten azdır (Akkuş, 1995). SOR etkisi sonucu DNA ve kromozomlarda kırılma ve onkogenlerde aktivasyon meydana gelir (Halliwell and Gutteridge, 1989; Akkuş, 1995). Eritrositlerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oksidasyonu sonucu hemoliz ve membran hasarının indüklendiği bilinmektedir. Hemoglobinden O<sub>2</sub><sup>-</sup> nin normal oluşumu sonucu hücre hafif bir oksidatif strese maruz kalır (Halliwell and Gutteridge, 1989). Diğer yandan antineoplastik ajanlar SOR'ların biyolojik kaynaklarından. Bu ajanlar sitotoksik etkilerine bağlı olarak lipid peroksidasyonunu artırmaktadırlar (Akkuş, 1995).

## **2.2. Antioksidanlar**

Organizma SOR'lara ve bunların neden olduğu zararlara karşı bir savunma sistemine sahiptir. SOR'ları ve bunların meydana getirdiği zararları önleyen maddeler AO olarak adlandırılırlar (Akkuş,1995; Aslan and Dündar, 1999). Normal fizyolojik şartlarda, hücreler oluşan SOR ürünlerinin belirli bir düzeyin altında tutulması ve dolayısıyla onların neden olduğu oksidatif hasarların engellenmesi için enzimatik ve nonenzimatik yapılardan oluşan AO savunma sistemlerine sahiptirler. Hücreler bu sayede SOR'lardan ve lipid peroksidasyonundan korunurlar (Gutteridge and Halliwell, 2000; Urso and Clarkson, 2003; Valavanidis et al., 2006).

AO'lar, okside olabilen bileşiklerin oksidasyonunu önleyerek vücutta antibakteriyel, antikanserojen ve kalp-damar hastalıkları riskini azaltıcı rol oynar. AO'lar kanser ve

kardiyovasküler rahatsızlıklara neden olan SOR ve ROS 'lara göre güçlü AO özelliğe sahiptir. Fenolik bileşikler, fitik asit, askorbik asit, tokoferol; meyve ve sebzelerde, çayda, tüm tahıl tanelerinde doğal olarak bulunan ve sağlık üzerinde olumlu etkiye sahip olan AO bileşiklerdir (Meral and Doğan, 2006).

AO'lar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler (Winston, 1991; Murray et al., 1996; Hermes-Lima et al., 2001);

**1.** SOR oluşumunun engellenmesi,

**a.** Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırarak,

**b.** Oksijeni uzaklaştırarak veya konsantrasyonunu azaltarak,

**c.** Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırarak,

**2.** Oluşan SOR'ların etkisiz hale getirilmesi,

**a.** Toplayıcı etki: ROT lerini etkileyerek onları tutmaya ve daha az reaktif başka moleküllere çevirmeye yönelik etki (enzimler).

**b.** Bastırıcı etki: ROT leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olan etki (flavinoidler, vitaminler).

**c.** Onarıcı etki

**d.** Zincir kırıcı etki: ROT lerini ve zincirleme reaksiyon başlatacak olan diğer maddeleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki (hemoglobin, seroplazmin, mineraller, vitaminler).

AO'lar enzimatik ve nonenzimatik olarak sınıflandırılırlar. Hücresel seviyede etkili olan enzimatik sistemler içinde birincil olan AO enzimler arasında süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon proksidaz (GSH-Px) yer alır. Bu birincil savunma enzimlerinden başka dolaylı olarak AO sistem içinde yer alan glutatyon redüktaz (GSH-Rd) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) enzimleri de vardır ve bunlara ikincil AO enzimler denmektedir. Nonenzimatik AO savunma sistemleri ise başlıca glutatyon (GSH), vitamin A, C, E, melatonin, albümin, bilirubin, ürik asit vb. den meydana gelmektedir (Halliwell and Gutteridge, 1999; Aydın et al., 2001).

### 2.2.1. Antioksidan kaynakları

AO'lar endojen ve eksojen kaynaklı olabilirler. Ayrıca AO'lar; eksojen (karoten, C, A ve E vitamini), endojen (melatonin, SOD, GSH-Px, CAT), protein (melatonin), vitamin (C vitamini), iz element (Mg, Se) kompleks bileşik (kateşinler), hidrofilik (askorbik asit, ürat, flavonoidler), hidrofobik ( $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -tokoferol), direkt etkili (SOD, CAT), indirekt etkili (vitamin E) olanlar şeklinde gruplandırılabilir gibi, zar (vitamin A ve E,  $\beta$ -karoten), dolaşım (vitamin C, aminoasitler ve polifenoller), sitosol (koenzim Q10) ve sistem (Se, Zn) antioksidanları şeklinde de sınıflandırılmaktadır (Akkuş, 1995; Moure et al., 2001; Stahl et al., 2002; Ratnam et al., 2006; Cornelli, 2009; Pellegrini et al., 2009; Cemeli et al., 2009; Giacco et al., 2010).

**2.2.1.1. Endojen kaynaklı antioksidanlar:** Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan (nonenzimatik) AO'lar olmak üzere ikiye ayrılırlar (Akkuş, 1995).

#### Enzimatik antioksidanlar:

**Çizelge 2.1:** Başlıca enzimatik endojen antioksidanlar (Akkuş, 1995; Aslan et al., 1995; Madi et al., 1999).

Antioksidanlar	Reaksiyonlar
<b>Süperoksit dismutaz (SOD)</b>	Süperoksit serbest radikalının ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) radikallerinin moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
<b>Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)</b>	Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Özellikle eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan enzimdir. $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$
<b>Glutasyon redüktaz</b>	GSH-Px yoluyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonu (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyona dönüşümünü kataliz eder.
<b>Glutasyon-S-transferaz (GST)</b>	Lipid peroksitlere karşı GSH-Px aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.
<b>Mitokondriyal sitokrom oksidaz</b>	Solunumun zincirinin son enzimi olup, süperoksidi ( $O_2^{\cdot-}$ ) detoksifiye eder.
<b>Katalaz</b>	Hidrojen peroksidi ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil (OH) radikallerinin oluşumunu önlemek için bunları suya ve oksijene parçalar.



### **Glutasyon peroksidaz:**

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi ilk kez Mills tarafından 1957 yılında hayvan eritrositlerinden izole edilmiş bir enzimdir. Endotel hücrelerinde özellikle akciğerde etkili enzimdir (Mungan, 1996; Arteel and Sies, 2001). Genellikle yüksek yapılı bitkilerde ve bakterilerde bulunmamakla birlikte bazı alg ve mantarlarda bulunduğu bildirilmiştir (Mills, 1957; Halliwell and Gutteridge, 1999). Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı ise yaklaşık olarak 85000 Dalton'dur. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülür (Mungan, 1996; Fırat, 1997).

Enzim aktivitesinin % 60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesinin en fazla olduğu dokular ise eritrositler ve karaciğerdir (Fırat, 1997). GSH-Px, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999). Zar fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGSH-Px membranın peroksidasyonuna karşı korunmasını sağlar (Halliwell, 1987). E vitamini yetersiz olursa membranı peroksidasyona karşı korur. Eritrositlerde en kuvvetli antioksidandır. Glutasyon peroksidaz yetersizliği Se eksikliği sonucu olabilir. Çünkü Se bu enzimin bir integral parçasıdır (Jialal and Grundy, 1993; Steinberg and Chait, 1998; Young and Woodside, 2001; Chao et al., 2002).

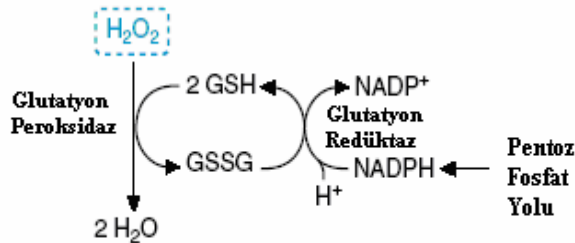
GSH-Px, elektron kaynağı olarak glutasyonu kullanarak hidrojen peroksit ve organik hiperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu bir enzimdir. Mitokondri, sitozol ve hücre membranlarında bulunur (Deaton and Marlin, 2003). Bu enzimin iki ana tipi tanımlanmıştır. Bunlardan biri aktif bölgesinde selenosistein formunda kovalent bağlı selenyum içeren selenyuma bağımlı GSH-Px (Se-GSH-Px) dir. Se-GSH-Px, organik hidroperoksitler ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e karşı aktiftir. Diğeri ise GST olarak adlandırılan, katalizleme işlemi için selenyuma bağımlı olmayan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye karşı ihmal edilebilir bir aktivite gösteren, daha çok organik hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan tiptir (Guemori et al., 1991; Halliwell and Gutteridge, 1999; Cnubben et al., 2001).

Reaksiyon 1 ve 2’de de görüldüğü gibi Se’a bağımlı GSH-Px, her ünite aktif bölgesinde selenosistein formunda Se atomu içeren dört protein alt ünitesinden oluşur ve molekül ağırlığı yaklaşık 85 kDa dur. Se-GSH-Px ler, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’de dahil çeşitli hidroperoksitlerin yıkımını, GSH’ın oksidasyonu yoluyla katalizler. Okside glutatyon (GSSG) ise GSH-Rd enzimi yardımıyla tekrar GSH’a indirgenir (Halliwell and Gutteridge, 1999; Aydın et al., 2001).



### Glutatyon redüktaz:

Yükseltgenmiş glutatyonu indirgenmiş hale çeviren 2 subünitten oluşmuş bir dimerdir. Her bir subünit 3 tane yapısal alan içerir: NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve ara yüz alan olmak üzere. Okside glutatyon bir subünitin FAD alanı ve diğer subünitin arayüz alanından oluşan bir bağlanma bölgesi vardır. Glutatyonun indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH’dan FAD’a transfer edilir. Daha sonra subünitlerdeki iki sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutatyon aktarılmış olur (Cherubini et al., 2005). GSH-Rd’nin kalıtımı otozomal dominanttır, 8.kromozom üzerindedir. GSH-Px ile benzer doku dağılımı gösterir. GSH-Rd, flavin adenin dinükleotid (FAD) içerir, NADPH’den bir elektronun GSSG’nin disülfid bağlarına aktarılmasını katalizler. Bu nedenle NADPH, SOR hasarına karşı gereklidir (Şekil 2.1.) ve kaynağı pentoz fosfat yoludur (Özkan and Fışkın, 2004).



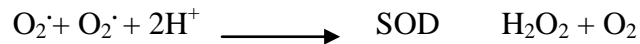
Şekil 2.1. Glutatyonun redoks döngüsü.

### **Glutasyon S-transferaz (GST):**

Toksik metabolitlerle glutasyonun konjugasyonunu katalizleyen GST enzimi de toksik metabolitlerin detoksifikasyonuna yol açan başka bir AO enzimidir (Van Haaften et al., 2001).

### **Süperoksit Dismutaz:**

McCord ve Fridovich tarafından 1968'de keşfedilmiştir. 3 tür süperoksit dismutaz (SOD) vardır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-Zn-SOD ve üçüncüsü de Cu içeren ve plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD'dir (Young and Woodside, 2001; Taysi et al., 2002; Taysi et al., 2002; Cherubini et al., 2005). Süperoksit dismutazlar, merkezlerinde bulunan geçiş metallere göre, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD olmak üzere üç sınıfa ayrılır (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Fridovich, 2001). Metalloprotein olan SOD bir süperoksit molekülünü O<sub>2</sub> molekülüne yükseltgeyip, diğer süperoksit molekülünü H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye indirger.



Bu dismutasyon reaksiyonu süperoksit radikalinin anyon ve kation formlarının eşit oranda bulunduğu pH 4,8'de kendiliğinden de cereyan eder. Ancak fizyolojik şartlarda yani pH'nın 7,35- 7,45 arasında iken bu reaksiyon çok daha yavaş oluşacaktır. SOD enzimi varlığında pH en az 7,4 olduğu koşullarda bu reaksiyon 4 kat daha hızlı olacaktır (Cherubini et al., 2005).

### **Katalaz:**

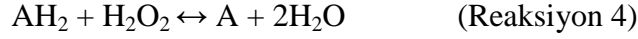
Katalaz (CAT), 1937 yılında Sumner ve Dounce tarafından sıgır karaciğerinden izole edilmiştir. Molekül ağırlığı 240 kDa civarında olup, aktif kısmında dört tane ferrihem grubu (Fe<sup>+3</sup>-protoforfilin) bulunduran bir hemoproteindir. Her alt ünite aynı zamanda enzimi kendi substratı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye karşı koruyan ve etkinliğini artıran NADPH içerir (Halliwell and Gutteridge, 1999; Aydın et al., 2001; Nordberg and Arner, 2001).

SOD aracılığıyla oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bir radikal olmamasına karşın, Cu ve Fe iyonlarının katalizöründe Fenton reaksiyonu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikalini getirdiği için önemlidir (Cheung et al., 2001). CAT, reaksiyon 3'te de görüldüğü gibi SOD'a benzer bir dismutasyon mekanizması ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi su ve moleküler oksijene

parçalayarak biyolojik sistemleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin zararlarına karşı korurlar (Aebi, 1984; Halliwell and Gutteridge, 1999; Nordberg and Arner, 2001).



Ayrıca reaksiyon 4'te de görüldüğü gibi CAT enzimi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında peroksidaz etkisi ile metanol ve etanol gibi alkolleri, formaldehid ve asetaldehide oksitlerler (Aydın et al., 2001).



### Enzimatik olmayan antioksidanlar:

**Çizelge 2.2.** Enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar (Akkuş 1995; Aslan et al., 1995).

Antioksidanlar	Reaksiyonları
<b>Melatonin</b>	Lipofilik özellik göstermesinden dolayı hücrenin hemen hemen bütün organellerine hatta hücrelerine kadar ulaşarak geniş bir dağılım gösteren melatonin, hidroksil ve süperoksit radikallerini tutarak antioksidan etki gösterir.
<b>Seruloplazmin</b>	Ferro demiri (Fe <sup>2+</sup> ) ferri demire (Fe <sup>3+</sup> ) yükseltgeyerek fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu engeller.
<b>Transferrin</b>	Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu önler.
<b>Laktoferrin</b>	Düşük pH'lı ortamlardaki demir iyonlarını bağlar.
<b>Glutatyon (GSH)</b>	Karaciğerde sentezlenen bir tripeptiddir. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini önler. Eritrositleri, lökositleri, göz lensini oksidatif hasara karşı korur.
<b>Sistein</b>	Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.
<b>Ürik asit</b>	Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleri de toplar.
<b>Glikoz</b>	Hidroksil radikali gidericisidir.
<b>Albumin</b>	HOCl radikali toplar. Proteini ve metal iyonlarını bağlar.
<b>Bilirubin</b>	Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır.

### Glutatyon:

Hücre içerisinde indirgen formda (GSH) bulunur. Endojen üretilen peroksidlere karşı okside olarak onları indirger. Glutatyon peroksidaz bu reaksiyonu katalizler. Glutatyon etkin olarak hücreyi koruyabilmesi için büyük kısmı redükte halde tutulmalıdır. Bu reaksiyonu da Glutatyon Redüktaz katalizler. Glutatyonun Glutatyon redüktazla indirgenmesi reaksiyonu NADPH'a ihtiyaç duyduğu için heksoz monofosfat yoluyla bağlantılıdır (Sözmen et al., 2002; Memisogullari et al., 2003; Vincent et al., 2004; Cherebuni et al., 2005).

**2.2.1.2. Eksojen kaynaklı antioksidanlar:** Eksojen antioksidanlar; vitaminler ve ilaç antioksidanları olarak sınıflandırılırlar (Akkuş, 1995).

### **Vitamin antioksidanlar:**

**Çizelge 2.3.** Vitamin antioksidanlar (Aslan ve Dündar, 1999).

<b>Antioksidanlar</b>	<b>Reaksiyonları</b>
<b>Vitamin E (<math>\alpha</math>-tokoferol)</b>	Süperoksit, hidroksil radikallerini indirger. Zar lipidlerinde çözünerek peroksidasyon zincirini kırar.
<b>Provitamin A (<math>\beta</math>-karoten)</b>	Serbest radikal türlerini toplar.
<b>Vitamin C (askorbik asit)</b>	Hidroksil radikal gidericidir ve tokoferolü indirger. Kollagen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir.
<b>Koenzim Q (ubikinon)</b>	Mitokondriyal enerji metabolizmasında görev alan ve bütün canlılarda çeşitli oranlarda bulunan vitamin benzeri bir antioksidandır. B3 vitamini ile DNA onarımında rol almaktadır. Vücut tarafından sentezlendiği gibi dışarıda besinlerle de alınabilir.

### **E vitamini:**

İlk olarak Evans tarafından 1938 yılında bulunmuştur. Membranlarda oksijen radikallerinin ana temizleyicisidir. En aktif formu  $\alpha$ - tokoferoldür. Zincir kırıcı AO olarak fonksiyon görür. Hidrofobik kısmına hidrojenini kolaylıkla verebilen –OH grubu bağlıdır. Bu yüzden lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri yağ asidi yerine  $\alpha$ -tokoferolle birleşerek reaksiyon zinciri kırılmış olur (Jialal and Grundy, 1993; Steinberg and Chait, 1998; Van et al; 2001; Chao et al., 2002; Singh and Jialal, 2004).

E vitamininin en önemli fonksiyonu, biyolojik sistemlerde zincir kırıcı bir AO olarak SOR reaksiyonlarının yayılmasını önlemesi ve hücreleri lipid peroksidasyonuna karşı korumasıdır (Ulrey, 1981; Evangelou et al., 1997; Ricciarelli et al., 2001; Valko et al., 2006). Etkisini, tümör gelişimine neden olan aktif kanserojen maddelerin DNA'ya bağlanmasını ve kromozomlarda oluşturduğu kötü etkileri inhibe ederek gösterir (Putnam and Comben, 1987). E vitamininin önemli bir özelliği; AO etkinliğinin olması nedeniyle peroksitleri ve oksijen radikallerini nötralize etmesidir (El-Demerdash, 2004).

Organizmada önemli derecede biyolojik rolü olan Se, semimetallik bir elementtir. E vitamini ile birlikte sinerjetik etki göstermekte ve çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu onunla birlikte önlemektedir. Vit E ve Se ise  $H_2O_2$  ve lipid peroksidasyonu ile oluşan SOR'ların antioksidasyonunda etkili oldukları ve biyolojik etkilerini birlikte oluşturdukları, eksikliklerinde benzer klinik bulguların ortaya çıkması ve

biyolojik sistemler üzerine benzer etkileri olması sebebiyle birlikte uygulanması gerektiği belirtilmektedir (Smith, 1996; Köşkeröglü, 1998; Wetherilt, 1989; Yurdakök et al., 1985; Moure et al., 2001).

#### **A vitamini:**

$\alpha$  – tokoferol ile karşılaştırıldığında oldukça zayıf bir AO'dur. İnsan LDL'sinde  $\alpha$ -tokoferol'ün 1/20'si oranında bulunur ve  $\alpha$ -tokoferol bittikten sonra kullanılır (Cherebuni at al., 2005).

#### **C vitamini:**

C vitamini, peroksinitrit ve diğer SOR'ların vücuttan atılmasında yararlı etkiler göstermektedir (Tousoulis et al., 2009).

Se, vitamin E, vitamin C ve karotenoidler gibi AO maddeler ilaç ve ksenobiotiklerin oluşturdukları oksidatif hasarlara karşı koruyucu etkilere sahiptirler (Antunes et al., 2000; Silva et al., 2001; Naziroğlu et al., 2004; Reifen et al., 2004). 51 hücre kültürü ve 81 hayvan çalışmasında A, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C, D, E vitaminleri,  $\beta$ -karoten, Se ve sistein kombinasyonlarının, kemoterapi ve radyoterapinin yan etkilerine karşı koruyucu olduğu, hayatta kalma süresinin uzadığı, tedaviye cevabın arttığı bildirilmiştir (Simone et al., 2007). AO'ları tüketen ajanlarla tedavi edilen hastalarda, AO'ların bu kaybı telafi etmek üzere kullanılması mantıklı görülmekte ve bu hastalarda AO takviyesinin gerekli ve yararlı olabileceği üzerinde durulmaktadır (Blumenthal et al., 2000; Ladas et al., 2004).

#### **İlaç olarak kullanılan antioksidanlar:**

**Çizelge 2.4.** İlaç olarak kullanılan antioksidanlar (Akkuş, 1995; Aslan, 1999).

<b>Antioksidanlar</b>	<b>Reaksiyonları</b>
<b>Allopurinol,oksimurinol,tungsten</b>	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder.
<b>Adenozin</b>	NADPH oksidaz inhibitörüdürler.
<b>Trolox-C</b>	Vitamin E analogu olarak görev yapar.
<b>Ebselen, asetilsistein</b>	Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) artırır.
<b>Mannitol</b>	Hidroksil radikalini toplayıcı etki gösterirler.
<b>Desferroksamin</b>	Serbest ferri demiri (Fe <sup>+3</sup> ) bağlar.
<b>Demir şalatorleri</b>	Hücre içine girerek serbest demiri bağlayarak, fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu engeller.

Bazı gıda AO'larının oksidasyonu engelleyerek, arteroskleroz, malarya, romatoid artrit ve diyabette faydalı olabileceği, antitümoral, antimutajenik, antimetastatik, antitrombik, antiülser, antikarsinojenik ve antihipertansif ayrıca antibakteriyel, antifungal,

antiviral, antiaging etkileri de olduğu yapılan in-vivo çalışmalarla belirlenmiştir (Moure et al., 2001; Stahl et al., 2002; Ratnam et al., 2006; Hassimotto et al., 2008; Cemeli et al., 2009; Cornelli, 2009; Pellegrini et al., 2009; Giacco et al., 2010).

### **2.3. Karaciğer**

Abdominal boşluğun st bölümünde bulunan karaciğer, vücutta salgı yapan en büyük organdır. Yaygın damar ağına sahiptir ve iki ana loptan oluşur. Sağ lop sola oranla daha büyüktür. Hepatik hücrelerden oluşmuştur. Karaciğere, hepatik arter ve hepatik portal ven girer, hepatik ven safra kanalına çıkar (Mercanlıgil 2008). Vücuttaki en büyük organ olan karaciğer toplam vücut ağırlığının erişkinde %2'si, yenidoğanda ise %5'ini oluşturur (Mushlin and Gelman, 2001).

Karaciğer, falsiform ligament ile anatomik olarak sağ ve sol loblara ayrılır. Daha büyük olan sağ lobun arka yüzeyinde iki küçük ek lobu (caudate ve quadrate) vardır. Karaciğerin cerrahi anatomisi ise arter ve ven bifurkasyonuna göre sağ ve sol loblara göre ayrılır. Falsiform ligament sol cerrahi lobu medial ve lateral segmentlere ayırır. Böylece karaciğerin cerrahi anatomisini toplam sekiz segment oluşturur (Morgan et al., 2002).

Karaciğerin lobül denilen ve sayıları 50,000-100,000 arasında değişen anatomik üniteleri vardır. Her lobül merkezindeki venin etrafında silindirik olarak sıralanmış hepatositlerden oluşur. Her lobül vresinde de 4-5 portal yol bulunmaktadır. Portal yollarda hepatik arteriyoller, portal venüller, safra kanalcıkları, lenfatikler ve sinirler vardır. Loblden farklı olarak asinüs denilen fonksiyonel karaciğer nitesi ortadaki portal yol ve periferindeki sentrilobüler venleri ile tanımlanır. Portal yola yakın olan hücreler (Zon I) iyi oksijenlenir. Sentrilobüler vene yakın olan hücreler (Zon III) ise en az oksijen alan ve zararlı etkenlere en duyarlı olan bölgedir (Morgan et al., 2002).

Karaciğer arteriyollerinden ve portal venüllerden gelen kan, hücre tabakalarının aralarında yerleşmiş, kapiller fonksiyonu olan sinüzoidal kanallardan geçer. Karaciğer sinzoidlerinde iki tip hücre vardır: Endotelyal hücreler ve makrofajlar (Kupfer hücreleri). Disse aralığı, sinüzoidal kapiller ile hepatositler arasındadır. Hepatik lobüllerin santral venlerindeki venöz drenaj birleşerek hepatik venleri (sağ, orta ve sol) oluşturur. Bunlar da inferior vena kavaya boşalır. Caudat lobun venleri ayrıdır. Safra kanalcıkları her plağın içinde hepatositlerin aralarında doğar ve birleşerek safra kanallarını oluşturur. Lenf sistemi de aynı Şekilde disse aralığı ile doğrudan bağlantılıdır (Morgan et al., 2002).

Kalp debisinin %25'ini alan karaciğere 100g doku başına dakikada 100-130mL kan gelmektedir. Hepatik arter karaciğere gelen kanın yaklaşık %25'ini sağlarken O<sub>2</sub> ihtiyacının da %45-50'sini sağlar. Karaciğere gelen kanın %75'ini sağlayan portal ven ise O<sub>2</sub> ihtiyacının ancak %50-55'ini sağlar. Çünkü portal ven preportal organların (mide, bağırsaklar, dalak ve pankreas) venöz drenajını sağlayıp, parsiyel olarak deoksijenize olarak gastrointestinal sistemden absorbe ettiği besin ve diğer bileşenlerden zengin kanı taşır (Mushlin and Gelman, 2001). Karaciğer kan akımının regülasyonunda hem intrinsik hem de ekstrinsik mekanizmalar rol oynar (Mushlin and Gelman, 2001; Pannen, 2000).

### **Karaciğerin fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonları:**

• **Kan Rezervuarı:** Karaciğer her 100g doku başına 25-30 mL kan içerir ve total kan volümünün %10-15'ini barındırır. Otonomik innervasyon ve sistemik sirkülasyondan alınan nörohumoral mesaj ile bu rezervuar volüm gerektiğinde devreye girer. Sempatik sistemin aşırı uyarılması durumunda (ağrı, hipoksi, hiperkarbi v.b.) hepatik kan akımındaki azalmada hepatik kan volümünün %80'i (400-500 mL) saniyeler içinde devreye girer. Anestezikler sempatik sinir sisteminde süpresyon yaparak bu rezervuar fonksiyonda bozukluğa yol açabilir. Ani intravasküler volüm kayıplarında hızlı replasman yapılmazsa sirkülatuar dekompenzasyon oluşabilir (Mushlin and Gelman, 2001).

• **Koagülasyonun Regülasyonu:** Karaciğerin kanın pıhtılaşma fonksiyonunda birçok yoldan katkısı vardır. Tüm koagülasyon faktörleri (Faktör VIII, vWF ve Faktör IV hariç) karaciğerde sentezlenir. K vitamininin emilimi safra tuzları sayesinde olur. Karaciğer aynı zamanda trombopoetinin sentezinin düzenlenmesi ile de trombosit yapımını kontrol eder. Aynı zamanda fibrinoliziner ile doku plazminojen aktivatörlerinin klirensinin karaciğerde olması ile de fibrinolitik sistemin kontrolünde de rol oynar (Mushlin and Gelman, 2001).

• **Endokrin Fonksiyonu:** Anjiyotensin, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), trombopoetin sentezinde rol oynar. Yine insülin, tiroksin ve östrojenin transport ve metabolizmaları için de gereklidir (Mushlin and Gelman, 2001).

• **Bilirubin Atılımı:** Bilirubin hemoglobin metabolizmasının son ürünüdür. Retiküloendotelyal sistemde (RES), hem halkasının, miyoglobinin ve sitokrom enzimlerinin parçalanması ile oluşur. Hem oksijenaz tarafından parçalanan hemoglobin CO<sub>2</sub>, demir (Fe) ve biliverdine parçalanır. Biliverdin redüktaz ile bilirubine dönüşür. Bilirubinün konjügasyonu (glukronide bağlanır) karaciğerde gerçekleşir (Morgan et al., 2002).



• **Karaciğerin Metabolik Fonksiyonları:** Karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasından karaciğer sorumludur (Mushlin and Gelman, 2001).

• **İlaç Metabolizması:** Dışardan alınan pek çok madde ve ilacın biyotransformasyonu karaciğerde gerçekleşir. Son ürünler ya inaktiftir ya da suda eriyen safra veya idrarla atılması kolaylaşmış maddelerdir (Morgan et al., 2002).

• **Depolama Fonksiyonu:** Vitaminlerin depolanması, demir depolanması, glikojen depolanması.

• **Sentez fonksiyonu:** Albumin, globulin, immünoglobulinler, seruloplazmin, transferrin, koagülasyon proteinleri, fibronektin, lipoprotein sentezi, karaciğer enzimleri, üre sentezi, kreatin gibi proteinlerin sentezi.

- Sindirim sisteminden kaynaklanan bakterilerin filtre edilmesi.
- Gastrointestinal yolla safra salgılama.
- Bağırsaktan dönen kanın filtrasyonu (Dilek, 2003; Burtis and Ashwood, 2005).

### **2.3.1. Karaciğer enzimleri**

Bedenimizdeki detoksifikasyon, metabolizma ve savunma sisteminde özelleşmiş, çok fonksiyonlu bir organ olan karaciğerin fonksiyonlarının bozukluğunu tek bir test ile belirlemek mümkün görünmemektedir. 1950 yıllarından beri hepatositlerde enflamasyon veya nekroz sonucunda transaminaz yüksekliğinin gösterilmesi ile hepatoselüler hasar belirlenebilmektedir (Tarantino, 2007). Hepatositlerde meydana gelen hasar hepatik hasar olarak adlandırılmakta olup akut ve kronik olarak iki grupta incelenmektedir. Akut hepatik hasar aniden veya kısa zaman içinde ortaya çıkan tablolar için kullanılan bir terimdir. Kronik hepatit hasarı ise hepatositlerin 6 aydan daha uzun süre hasara maruz kalması ile ortaya çıkan tabloyu ifade eder (Dilek, 2003; Burtis and Ashwood, 2005).

Karaciğer, sentez ve detoksifikasyon görevleriyle vücuttaki en önemli organlardan biridir. Birçok hastalıkta karaciğer dokusu direkt veya dolaylı olarak etkilenir. Hepatobiliyer sistemin işlev ve hasar durumunu değerlendiren testler; alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), laktik dehidrogenaz (LDH), gamaglutamil transferaz (GGT), alkalen fosfataz (ALP), albumin, bilirubin, protombin zamanı (PT) ve parsiyal tromboblastin zamanı (PTT)'dir. Bu testler içinde en önemli ve en sık kullanılan testler ALT ve AST ölçümüdür ve bu iki enzim en fazla hepatosellüler hasarda artar (Özen and Koçak, 1998; Ng and Balistreri, 2004).

### **2.3.1.1. Aminotransferazlar**

Alaninaminotransferaz (ALT, eski deyimle SGPT) ve aspartat aminotransferaz (AST, eski deyimle SGOT) vücutta birçok organ ve dokuda yaygın olarak bulunan hücre içi enzimlerdir. ALT öncelikle karaciğer ve böbreklerde bulunup, kalp ve iskelet kasında daha az miktarda mevcut iken, AST daha çok kalp kası, karaciğer ve iskelet kaslarında bulunur. Karaciğerdeki ALT seviyesi serumdan 3000 kat, AST aktivitesi ise yaklaşık 7000 kat daha fazladır. ALT hücre stoplazmasında bulunurken AST hem stoplazmada hem de mitokondirada bulunur. ALT nin yarı ömrü  $47 \pm 10$  saat, AST nin yarı ömrü ise  $17 \pm 5$  (mitokondrial AST nin yarı ömrü daha uzundur) saattir (Lott and Wolf, 1986).

İntraselüller enzimler olan serum aspartat aminotransferaz (AST-SGOT) ve alanin aminotransferaz (ALT-SGPT) düzeyleri hepatik hasarın hemen hemen tüm tiplerinde artabilir. 3 kattan daha az olan artışlar genellikle steatoz veya kronik viral hepatitlerle beraber iken, büyük miktardaki (3-20 kat) artışlar akut hepatit veya kronik hepatitin akut alevlenmelerinde görülür. 20 kat ve üzerindeki yükselmeler ise masif hepatoselüler nekrozu gösterir ki, genellikle ilaç veya diğer kimyasallara bağlı toksik reaksiyon, sirkülatuar şok veya ciddi viral hepatitte olur (Parks et al., 2000; Mushlin and Gelman, 2001).

AST ve ALT ciddi hepatosit yıkımının olduğu ağır karaciğer hastalığında normal de olabilir (enzim salgılayacak hücre kalmadığından). AST ve ALT, karaciğer dışında kalp, iskelet, böbrek ve beyinde de bulunur. ALT, karaciğer için daha spesifiktir (Parks et al., 2000).

Sitoplazmik ve mitokondrial bir enzim olan AST; karaciğer, kalp kası, iskelet kası, böbrek, beyin, pankreas, akciğer, lökosit ve eritrositlerde bulunur. Sitoplazmik bir enzim olan ALT ise en çok karaciğerde bulunur. Bu enzimlerin serum düzeylerindeki artış, aminotransferazlardan zengin dokulardaki hasar veya bu enzimlerin seruma sızmasına yol açan membran geçirgenlik değişiklikleri ile ilgilidir (Selimoğlu, 2009). Serum transaminazları içinde yer alan ALT, hücre sitoplazmasında bulunan bir enzimdir ve karaciğer dışındaki dokularda fazla bulunmaz. Bu nedenle bu enzimin yüksekliği karaciğer hastalıklarının özgül bulgusu olarak kabul edilir. Diğer yandan hem sitoplazmik hem de mitokondriyal bir enzim olan AST, karaciğer dışında kalp ve iskelet kaslarında da bulunur ve hepatosellüler hasar dışında kalp ve iskelet kasını ilgilendiren olaylarda da artabilir (Gilbert-Barness et al., 2003). Hepatoselüler hastalıkların çoğunda ALT daha belirgin

olmak üzere, AST ve ALT aynı derecede yükselir. Akut hepatoselüler hasar göstermede ALT, AST'den daha duyarlıdır (Preisig et al., 1992).

### **2.3.1.2. Aminotransferazların etki mekanizmaları**

Karaciğer fonksiyon testleri olarak bilinen bu enzimler aspartat transaminaz (AST) ve alanin transaminaz (ALT)'dir. Hepatositlerde bol miktarda bulunurlar, alanin ve aspartatdaki amino gruplarını ketoglutarik asidin alfa keto grubuna taşıyarak sırası ile piruvik asit ve oksaloasetik asit oluşumunu katalizlerler (Dufour et al., 2000).

Hepatosit hücre zarı hasar gördüğünde bu enzimler kana karışır. AST ve ALT iskelet ve kalp kasında da bulunur, kas hasarı, aşırı egzersiz, polimiyozit ve hipotiroidizmde normalin birkaç katına çıkabilir (Nathwani et al., 2005; Saha and Maity, 2002). Kronik karaciğer hastalıklarından hepatit C ve sirozda hepatosit hasarı apoptozis (programlanmış hücre ölümü) ile gerçekleştiğinden hasar olmasına rağmen AST ve ALT daha az sentezlenir (Healey et al., 1995; Haber et al., 1995). Buradan da anlaşılacağı üzere karaciğer fonksiyon testleri olarak bilinen bu testler esas olarak karaciğer hasarını gösterir ve sensitivite ve spesifiteleri oldukça düşüktür (Johnston, 1999; Saha and Maity, 2002; Nathwani et al., 2005).

### **2.3.1.3. Aspartat transaminaz**

Aspartat transaminaz (AST), SGOT (serum glutamat oksaloasetat transaminaz) olarak da adlandırılır. Katabolizması sırasında, AST amino gruplarını glutamattan oksaloasetata transfer ederek üre döngüsünde bir azot kaynağı olarak kullanılan aspartatı oluşturur (Champe et al., 2007).

Karaciğer hücre hasar testlerinden biridir. Viral hepatit, toksik hepatit, Reye Sendromu, enfeksiyöz mononükleoz, tıkanma sarılığı ve siroz gibi karaciğer hastalıklarında artar. Kalp ve iskelet kasında da yoğun bulunduğu için miyokard enfarktüsü, hepatik konjesyonla birlikte bulunan kalp yetmezliği, bazı perikardit ve miyokardit olgularında artışı gözlenir. Kalp kası hastalıkları dışında kas distrofisi, kas travması, intramüsküler enjeksiyonlarda da AST artışı olur. Hafif karaciğer hücre hasarında, karaciğer hücre sitozolünde yoğun bulunan ALT enziminin kan düzeyi, AST'ye göre daha çok yükselir. Ağır hücresel hasar ve nekroz durumlarında ise, karaciğer hücresinin hem mitokondri, hem de sitozolünde bulunan AST kan dolaşımına karışacağından, kandaki AST düzeyleri ALT'den daha fazla olacaktır (Henry, 2001).

#### **2.3.1.4. Alanin transaminaz**

Alanin transaminaz (ALT), SGPT (serum glutamat piruvat transaminaz) olarak da adlandırılır. Alaninin amino grubunun  $\alpha$ -ketoglutarata transferini katalizleyerek piruvat ve glutamat oluşumunu sağlar. Reaksiyon geri dönüşümlüdür. Ancak, aminoasit katabolizması sırasında, bu enzim glutamat sentezi yönünde çalışır. Böylece sonuçta glutamat, azot toplayıcısı olarak alaninden hareket etmiş olur (Champe et al., 2007).

Karaciğer hücre harabiyetini gösteren testlerden biridir. Artışları viral hepatit, toksik hepatit, Reye sendromu, tıkanma sarılığı ve siroz gibi karaciğer parankim hastalıklarında; hepatic konjesyonla birlikte olan kalp yetmezliği ya da miyokard enfarktüsünde, enfeksiyöz mononükleoz ve kas distrofilerinde gözlenir (Henry, 2001).

#### **2.3.1.5. Alkalen fosfataz**

Alkalen fosfataz (ALP) alkali ortamda farklı türlerdeki fosfat esterlerinin hidrolizini katalizleyen glikozil fosfotidilinozitol ile hücre membranına bağlı glikoprotein özellikli bir enzimdir. ALP'yi magnezyum, kobalt ve mangan gibi iyonlar aktive ederken kalsiyum ve inorganik fosfat inhibe eder, çinko ise yapısal rol oynar. ALP'nin başlıca kaynakları; osteoblastlar, hepatositlerin kanaliküler yüzü, biliyer epitelin lümene bakan yüzü, ince barsakların fırçamsı kenarı, böbrekte proksimal tubulus, plasenta ve lökositlerdir. Normal şartlarda insan serumu dört farklı kaynaktan ALP izoenzimi içermektedir. Bunlar; kemik, karaciğer, ince bağırsak ve gebelikte plasenta dokularıdır. İzoenzimleri arasındaki farkı, yapısında değişik oranda bulunan siyalik asit oluşturur ayrıca plasental izoenzimin protein miktarı da farklıdır (Harris, 1990; Attila and Matyar, 2002).

Bilier sistemi değerlendirmede oldukça sensitif olmasına karşın hepatobiliyer sisteme spesifik değildir. Kemik, plasenta, böbrek, bağırsak, lökosit ve karaciğerden de salınır. Gebelik esnasında ALP yaklaşık iki katına çıkar. En çok kolestatik hastalıklarda yükselir. Fulminan hepatic yetmezlikte serum AP/bilirubin oranının düşük olması kötü prognoza işaret eder (Parks et al., 2000 ; Mushlin and Gelman, 2001).

ALP düzeyleri birçok karaciğer hastalığında yükselmekle birlikte en sık safra akımının engellendiği intra ve ekstrahepatik kolestazda veya primer metastatik karaciğer tümörlerinde yükselmektedir ayrıca primer karaciğer kanserlerinde, granümatöz hepatitlerde ve enfeksiyöz mononükleoz gibi hastalıklarda da yüksek bulunur (Dufour, 2000; Pratt and Kaplan, 2000).

#### 2.4. Karaciğer Dokusu ve Serbest Radikaller

Karaciğer birçok ilacın ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve metabolizmasında çok önemli rol oynamaktadır. Biyolojik toksinler ve medikal ajanlar, hepatik metabolizmaları sırasında ROS üretiminde artışa yol açmakta ve buna ikincil protein, lipid, karbonhidratlarda hasar oluşturarak hepatik hücre biyokimyasal işlevlerini bozabilmektedir. Bu nedenle anikterik subklinik bozukluktan şiddetli nekroinflamatuvar hepatite kadar uzanan hepatotoksisiteye neden olmaktadır. Ortaya çıkan hepatotoksisitenin derecesi ksenobiyotiklere maruz kalınan süreye, doza ve antioksidan mekanizmalara bağlı olarak değişmektedir. Suda çözünen ksenobiyotikler değişikliğe uğramadan safra ve idrar yolu ile hızla uzaklaştırılırken, yağda çözünebilenler ise hidrofilik özellik kazanmak üzere biyotransformasyona uğramaktadır. Bu biyotransformasyonda özellikle hepatik metabolizma önemli role sahiptir. Faz I de bileşikler enzimatik oksidasyon, redüksiyon ve hidrolize uğramakta ve oluşan biyolojik metabolitler idrar yolu ile uzaklaştırılmaktadır. Bu metabolik süreçte CYP450 enzim ailesinin dahil olduğu mikrozomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi önemlidir. Bu sırada oluşan oldukça reaktif olan toksik ara ürünler, DNA, lipid ve proteinlerle etkileşebilmektedir. Faz II biyotransformasyonu ile ksenobiyotiklerin hidrofilitesi arttırılmaktadır. Enzimatik glukuronidasyon, sülfasyon, asetilasyon, metilasyon ve GSH konjugasyonu ile suda çözünebilen, daha az toksik metabolitler oluşmaktadır. Ksenobiyotiklere toksik dozda maruziyet, hepatik GSH derişimi ve diğer karaciğer antioksidan düzeylerinde azalmaya neden olabilmektedir (Stehbens, 2003).

Karaciğer hasarının oluşumundaki en belirgin neden SOR'ların hepatositlere olan etkileridir. Oksijen radikalının üretiminin artması, sitokrom P450'nin indüklediği lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Oksidatif stres etanolün neden olduğu karaciğer hasarında önemli rol oynamaktadır (Uzun et al., 2005).

Nitrik oksit, karaciğerin bazı fonksiyonları için önemli bir düzenleyicidir. NO ve karaciğer arasındaki ilişki, yoğun olarak sirozla ilgili çalışmalarda ele alınmıştır. Sirozda porto-sistemik şantlar ve kupffer hücre fonksiyon bozukluğu nedeni ile bağırsak kökenli bakteriyel lipopolisakkarid endotoksinlerinin ortadan kaldırılması, iNOS içeren hücrelerden yüksek derişimde NO salınımına neden olmaktadır. Bu şekilde salınımı artan NO sirozdaki hemodinamik bozuklukların temelinde önemli rol oynamaktadır (Özakyol, 1998; Peterman et al., 1999). Rat karaciğer mitokondrisinde yapılan bir çalışma da,

mitokondrilerin yüksek miktarda NO'ya maruz bırakılması sonucu mitokondriyal solunumun inhibe olarak oksidatif strese neden olabileceği bildirilmiştir (Schild et al., 2003).

## **2.5. Kanser Kemoterapisi ve Karaciğer**

Kemoterapötik ajanlara bağlı karaciğer reaksiyonlarının çoğu idiosenkrotik ilaç duyarlılığıdır. Ayrıca karaciğerin küçük hepatik venlerinin non-trombotik obliterasyonu ile karakterize veno oklüziv hastalık (VOD) gibi doz bağımlı hepatotoksisite de oluşabilir. Antimetabolit ajanların anlamlı karaciğer toksisitesi bulunmaktadır. Yüksek doz metotreksat alan olguların tümünde transaminazlar geri dönüşümlü yükselebilir. İdame olarak kullanılan oral metotreksat karaciğer fibrozu ve siroza yol açabilir. Metotreksat ile tedavi edilip karaciğer fibrozu gelişen sporadik olgularda hepatosellüler karsinom tanımlanmıştır. Genetik değişkenlikler, önceden var olan karaciğer metastazı, sepsis, immünsüpresyon, kan ürünlerine maruz kalma ve karaciğerde metabolize olan ek ilaçlar gibi değişkenler karaciğer toksisitesini etkilemektedir. Otolog (kök hücre nakli) KHT olgularında VOD görülme oranı%15 kadardır (hepatomegali, asit, karın ağrısı). Destek tedavisi ile hastaların çoğu düzelmekle birlikte, fatal karaciğer nekrozuna da gidebilir. Transplantasyonda kullanılan farklı kombinasyonlar (yüksek doz siklofosfamid ve busulfan, ilave olarak standart dozda 6-tyoguanin, sitarabin veya dakarbazin) VOD oluşumunda etkindir. Gemtuzumab ile tedavi gören akut miyelositik lösemi (AML) hastalarında da VOD oluşabilmektedir. L-asparaginaz bağlı pıhtılaşma faktörleri, fibrinojen, albumin, haptoglobulin ve transferin düzeylerinde azalma sık olarak görülür (reverzibil). Karaciğer fonksiyon bozukluğu olduğunda ilaç dozları azaltılmalıdır (Alexandrescu et al., 2006; Floyd et al., 2006; Kurkjian and Ozer, 2008). Karaciğer toksisitesi hepatosellüler nekroz, kolestaz, steatoz, fibrozis, hepatit ve veno-oklüzyon şeklinde ortaya çıkabilir. En yaygın gözlenen toksisite ise genellikle reversibl ve fatal olmayan karaciğer hasarıdır. Hepatit B'li olgular kemoterapi sırasında %47 oranında reaktifte olabilmektedir.

Siklofosfamid'in karaciğer toksisitesi düşüktür. Klorambusil ile karaciğer toksisitesi çok çok nadirdir. Melfelan geçici transaminaz yüksekliklerine yol açabilir. Busulfan ile kolestatik hepatit çok nadir bildirilmiştir. Carmustin geçici transaminaz yüksekliklerine yol açabilir. Platinum ajanlarla geçici transaminaz yükseklikleri gözlenirken nadiren şiddetli toksisite gözlenmektedir. 6-merkaptopürin'in kolestatik karaciğer toksisitesine yol açtığı, Azotiopürin ile ise kolestazis, yüksek dozlarda karaciğer fibrozisi bildirilmiştir. Cytarabin

ile hafif düzeyde karaciğer fonksiyon bozukluğu, reversibl kolestatik formada klinik tablo ortaya çıkabilmektedir. Methotreksat ile geçici, reversibl transaminaz yükseklikleri olabilir. Karaciğer toksisitesi için; yaş, obesite, karaciğer fonksiyonlarında azalma, diabet ve alkol kullanımı risk faktörleri arasında yer almaktadır. Gemcitabine doz modifikasyonuna ihtiyaç gösteren geçici transaminaz yükseklikleri yapabilmektedir. Fludarabin ile geçici enzim yükseklikleri dışında toksisite nadirdir. Gemtuzumab alanların %31'inde karaciğer enzimlerinde yükselme izlenirken, %23'ünde grade 3-4 toksisite fulminan karaciğer yetmezliği ve veno-okluziv hastalık şeklinde izlenebilmektedir. L-asparaginaz ile otoposilerde karaciğer steatozu %42- 87 bulunmakta, pıhtılaşma faktörlerinde azalma, fibrinojen, albumin, haptoglobulin, transferrin düzeylerinde azalma sıklıdır ve reversibldir. Ayrıca amonyak düzeylerinde yükselme de izlenmektedir. Alfa-interferon ile hafif düzeyde transaminaz yükseklikleri gözlenebilmektedir. İnterleukin-2, bilirubin, AST, ALT ve ALP yüksekliği, protrombin zamanında uzama, hipoalbuminemi'ye yol açabilmektedir. Kemoterapi ajanları ve radyoterapi karaciğer VOD'sine yol açabilmektedir. Destek tedavide sık kullanılan allopürinol, ondansetron, flukonazol ve filgrastim gibi ilaçlarla da nadiren karaciğer toksisitesi bildirilmektedir (Floyd et al., 2006).

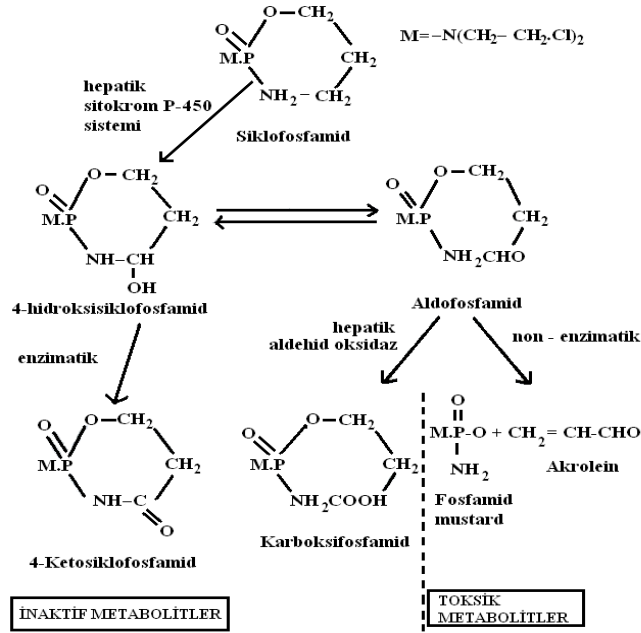
## **2.6. Siklofosfamid**

Siklofosfamid (CP) nitrojen mustard tipi alkilleyici antineoplastik bir ilaçtır. Tek başına veya diğer kemoterapötik ilaçlarla birlikte birçok neoplastik ve non-neoplastik hastalığın tedavisinde kullanılır. Karaciğerde aktif metaboliti olan fosforamid mustard (phosphoramid mustard = PAM)'a (Şekil 2.6.1.) dönüşerek etkinlik kazanır (Hamsa and Kuttan, 2011).

Alkilleyici ajanlar, antibiyotikler döneme özgü olmayan ilaçlardır. İlaç dozunun artırılması antitümör etkiyi artırır. Hem solid tümörler gibi yavaş büyüyen hem de hızlı çoğalan tümörlere etkilidir. Alkilleyici ajanlar bu gruptadır. Döneme özgü faz spesifik ajanlarda doz artırılması etkiyi artırmaz ancak ilaç verilme süresinin uzatılması etkiyi artırır. Hızlı gelişen kanserler, örneğin hematolojik kanserlerin tedavisinde etkilidirler (Atagündüz, 1998; Çiçek et al., 2006).

P-450 monooksijenaz sisteminin etkisi altında CP, 4-hidroksi CP'ye metabolize olur. Bu metabolit, enzimatik olmayan bir yolla aldofosfamide yeniden düzenlenir. Bu da PAM ve akrolein (acrolein = ACR)'e ayrılır (Şekil 2.6.1). PAM'ın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, CP'nin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu

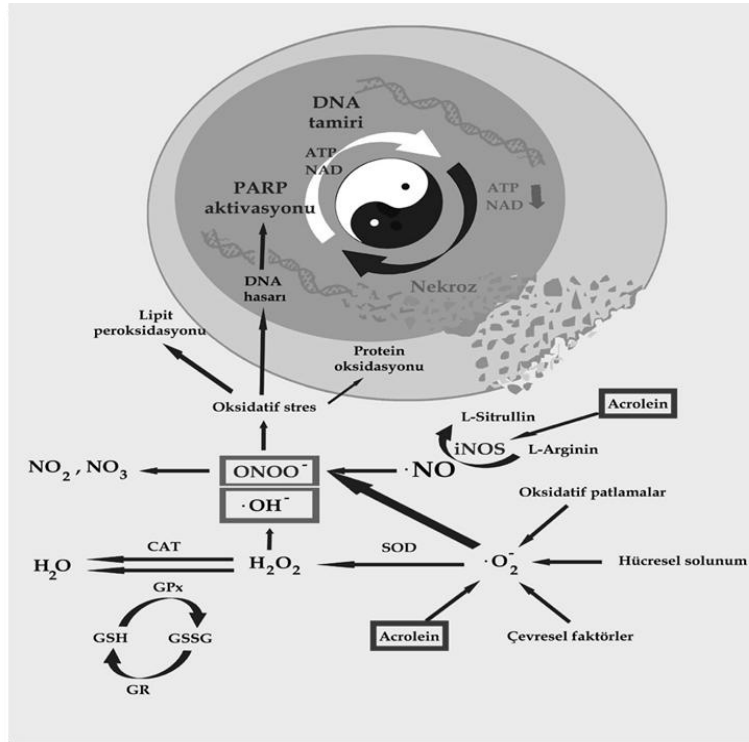
düşünülmektedir. Diğer taraftan ACR'nin önemli makro moleküllerinin sülfidril gruplarıyla çabucak reaksiyona girdiği böylece bağışıklığın baskılanmasında rol oynadığı düşünülmektedir (Kwon et al., 1987; Pool et al., 1988; Kawabata et al., 1990).



Şekil 2.6.1. Siklofosfamid metabolizması.

ACR üroepitelyumu geçerek ve bazı ROS'ları uyararak etkisini gösterdiği gibi nitrik oksit sentaz (NOS) üzerinden nitrik oksit (NO) seviyelerini artırarak da gösterir (Şekil 2.6.2) (Korkmaz et al., 2007). NO birçok önemli fizyolojik ve fizyopatolojik süreci düzenleyen SOR öncülü bir üründür. L-argininden NOS yoluyla sentez edilmektedir ve NOS'un 3 tipi vardır. Endotelial NOS (eNOS) endotelial hücrelerden ve fibroblastlardan sentez edilir ve ana olarak vazodilatasyondan sorumludur. Sinir sisteminde üretilen nöronal NOS (nNOS) sinirsel sinyalizasyonda görev alan bir enzimdir. İndüklenebilir NOS (iNOS), lökosit ve makrofajlarda sentezlenir. Genel olarak patolojik durumlarda sentezlenen iNOS'un aktivasyonu ile eNOS aktivasyonundan çok daha fazla NO üretilir [Szabo, 1996]. Hemorajik sistit durumunda subüretelyumda iNOS üreten immünoreaktif hücrelerin sayısı artmaktadır. Ayrıca ACR'nin tetiklediği mekanizmalar sonucunda interlokin- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , trombosit aktive edici faktör, COX-2 ve güçlü bir oksidan olan peroksinitrit seviyeleri artmaktadır (Korkmaz et al., 2005).





**Şekil 2.6.2.** ACR'nin üroepitelyal hücreye girmesi, reaktif oksijen türevlerinin üretimi ve iNOS aktivasyonunun artmasıyla başlayan ve DNA hasarıyla sonuçlanan süreç (Korkmaz et al., 2007).

CP'nin kullanıldığı alanlar şunlardır;

- Hodgkin dışı lenfomalar [Glode et al., 1981]
- Çocukların akut lenfositik lösemisi [Bokser et al., 1990]
- Küçük hücreli olan veya olmayan akciğer kanseri [Thatcher et al., 1988]
- Pediatrik solid tümörler [Bramwell et al., 1987]
- Çocukların nefrotik sendromu (Koyoma et al., 1977)

CP'nin en sık görülen yan etkisi bulantı, kusma ve diğer gastrointestinal bozukluklar ile kemik iliği depresyonudur (Ayhanci et al., 2009). CP özellikle daha önce kemoterapi görmüş hastalarda lökopeni yapmaktadır (Bramwell et al., 1987).

## 2.7. Selenyum

Hücreleri koruyan AO mekanizmada kilit mineral olan selenyum (Se) 1817 yılında Berzelius tarafından İsveç'te keşfedilmiştir (Kim et al., 2003; Kieliszek et al., 2012). Se oksidatif strese karşı önemli temel iz elementlerden biridir (Zwolak and Zaporowska, 2012).

Se aktif bağışıklık fonksiyonları, apoptozis, DNA korunması ve tamirine kadar birçok temel biyolojik süreçte yer almaktadır (Ganther, 1999; Jablonska et al., 2009).

### 2.7.1. Selenyumun biyolojik sistemlerdeki önemi

Se, periyodik tabloda VI A alt grubunda yer alan bir elementtir ve aynı grupta yer alan sülfür ile kimyasal özellikleri büyük benzerlik gösterir. Se; havada ve suda erimiş olarak, ayrıca toprak ve kayalarda katı halde bulunur. Böylece buralardan bitkilere, mantarlara, bakterilere ve insanlara geçer, sonra tekrar doğaya döner (Büyükakyüz et al., 2000). Doğadaki ortalama konsantrasyonu 0,09 ppm olarak bulunmuştur. Kandaki Se konsantrasyonu 60-100 mikrog/1 dir. Se, 1957'de memeli biyokimyasında rolü olduğu tanımlanan bir eser elementtir. Selenyumun insan beslenmesi için gerekli olduğu, düşük Se konsantrasyonu ile Keshan hastalığı arasındaki ilişkiyi keşfedinceye kadar bilinmiyordu. Yağın olarak Çin'de görülen bu juvenil kardiyomyopati pek çok çocuğun ölümüne sebep olmuş ve haftada 0.5-1 mg Se uygulanmasıyla tamamen tedavi edilmiştir (Combs and Combs., 1984). İnsanlarda görülen ve selenyum ile ilişkili daha pek çok hastalık mevcuttur. Bunlar arasında artrit, katarakt, kistik fibrozis, kas distrofisi, fenilketonüri, Down sendromu, bronkopulmoner displazi, hemolitik anemi, multiple skleroz, gece körlüğü, defektif immün cevap, malarya, Kwashiorkor ve çocuklarda ani ölüm sendromu sayılabilir (Foster and Sumar, 1997).

Se en fazla volkanik kayalarda selenit mineralleri olarak, sülfidlerdesülfür ile izomorfik olarak, hidrometal kaynaklarda çoğunlukla epidermal antimon, gümüş, altın ve civa ile beraber bulunmaktadır. Se, önemli AO enzim olan selenoproteinleri oluşturabilmek amacıyla proteinlere bağlanır. Selenoproteinler AO bileşikler olup hücreyi SOR'ların zararlarından korumaya yardımcı olur (Combs and Gray, 1998; Ursel, 2001; Goldhaber, 2003).

Se doğada inorganik ve organik olarak iki çeşittir (Korenovska, 2006). Se doğada selenat ( $Se^{+6}$ ), selenit ( $Se^{+4}$ ), element halinde ( $Se^0$ ) ve selenid ( $Se^{-2}$ ) olmak üzere dört oksidasyon seviyesinde bulunur (Maher et al., 2010; Wallschlager and Feldmann, 2010; Winkel et al., 2012). Tüm oksidasyon seviyeleri sucul ortamda mevcut olup her biri farklı

kimyasal, biyolojik ve toksikolojik özelliklere sahiptir. Selenat ve selenit tuzlarının her ikisi de aerobik sularda kolaylıkla çözülebilen ve en yaygın inorganik Se formlarıdır. Element halindeki Se sabittir, suda çözünmez ve sucul organizmalar tarafından çok az asimile edilir. Böylece element halindeki selenyumun düşük biyolojik kullanılabilirliği nedeniyle zararlı olmadığı düşünülmektedir. Daha yaygın bulunan inorganik formu genellikle sodyum selenit şeklindedir ve oldukça zararlı etki yapabilir. Diğer organik formu selenometiyonin şeklindedir ve daha az zararlıdır. Selenometiyoninin sodyum selenite nazaran eritrositlerdeki glutatyon peroksidaz aktivitesini iki kat arttırdığı bildirilmektedir (Fricke, 2005).

Se canlı organizmalar için esansiyel bir iz elementtir ve organizmada meydana gelen doymamış yağ asitlerinin oto-oksidasyonunu engellemektedir (Tos-Luty et al, 2003). Se aynı zamanda tiyoredoksin redüktaz'ın bir bileşenidir ki bu enzim DNA sentezinde, oksidatif strese karşı savunmada rol oynayan ve protein onarımında gerekli olan önemli bir enzimdir (Miller et al., 2007).

Se canlılarda düşük derişimlerde AO role sahipken, yüksek derişimlerde ise toksik olduğu belirtilmiştir (Tran et al., 2007). Önceleri toksik ve karsinojen özelliğiyle bilinen Se, yapılan son çalışmalar sonucunda biyolojik sistemler için önemli ve faydalı bir element olarak değerlendirilmiştir. Deneysel olarak oluşturulan karaciğer tümörlerinde Se verilmesiyle tümör insidansında %50 oranında bir azalma olduğu tespit edilmiştir (Vernie, 1984). Se AO savunmayla ilgili enzimlerde gerekli bir kofaktördür. Özellikle Se'a bağlı glutatyon peroksidazda çok önemli bir bileşen olduğu belirtilmiştir (Tran et al., 2007). Sucul organizmalar ile yapılan araştırmalarda Se'un toksik metalleri bağlamada ve toksisiteyi azaltmada çok önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (Klaverkamp et al., 1983; Talas et al., 2008; Kehrig et al., 2009). Memeli hayvanlarda ve bir çok balık türünde Se'un koruyucu etkisiyle ilgili yapılan araştırmalarda selenoproteinlerin kanser, nörolojik hastalıklar, ateşli hastalıklar ve enfeksiyon hastalıklarında engelleyici rol oynadığı belirtilmiştir (Kaur and Sandhu, 2008). Yapılan araştırmalarda ağır metallerin detoksifikasyonunda Se'un rolünün olduğu saptanmıştır (Klaverkamp et al., 1983; Diplock et al., 1986; Su et al., 2008).

Se, insan ve hayvanlarda temel bir mikronütrient olarak büyük ilgi görmüştür (El-Demerdash, 2004). Se'un koruyucu etkilerinin özellikle oksidatif hasardan DNA ve diğer hücre bileşenlerin korunması için bilinen seleno-enzim varlığı ile ilişkili olduğu görülmektedir (Valko et al., 2006). Se, sıçanlarda E vitamini eksikliğinde görülen

karaciğer nekrozunu da önlemektedir. Se, düşük konsantrasyonda insan ve hayvanların büyümesi için gerekli olan esansiyel bir elementtir fakat yüksek konsantrasyonlarda toksik özelliklere sahiptir (Navarro-Alarcon and Lopez-Martinez, 2000). Se, bazı metabolik hastalıkların ve kanser türlerinin önlenmesinde rol oynayan AO özellikteki GSH-Px enziminin yapısında bulunur. Se'un biyolojik önemi GSH-Px enziminin bir kofaktörü olmasından kaynaklanmaktadır. Her alt ünitesinde selenosistein şeklinde bir adet Se atomu içeren GSH-Px, hücre içinde hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ ) suya indirgenmesinde rol oynamaktadır. Se, E vitamini ile etkileşerek lipid metabolizması sonucu oluşan peroksitlerin neden olduğu oksidatif hasarlardan hücre membranını korumaktadır. Se, hayvan dokularında proteinle birleştiğinden et, et ürünleri ve balık en güvenilir kaynaklardır. Tahıl ve tohumlarda da yetiştiği toprağın Se içeriğine bağlı olarak çeşitli miktarlarda Se içermektedir (Gebre-Medhin et al., 1984). Se, duodenum ve proksimal jejunumdan etkili olarak emilir. Karaciğer ve eritrositler tarafından hızla alındıktan sonra metabolize olarak plazmaya döner. Eritrositler tarafından indirgenerek plazma proteinlerine bağlanabilecek hale gelir. Alınan Se'un % 55-60'ı idrarla atılır. Toksik seviyelerde ter ve solunumla atılımı önem kazanır (Orak et al., 2000).

### **2.7.2. Selenyum ve kanser**

Birçok biyolojik fonksiyon için esansiyel bir element olan Se'un epidemiyolojik ve deneysel hayvan çalışmalarında kanserden koruyucu etkisi olduğunu gösterilmektedir (Kinekt, 1998; Combs, 2004). Kanserden koruyucu etkisinin yanında Se prooksidan etkinlik göstererek kanser hücrelerinde oksidatif stres yaratmaktadır (Drake, 2006). Se'un diyetle alınmasının antikarsinojenik, AO ve antitümöral etkisi olduğu bilinmektedir (Gürer and Ercal, 2000; Jamba et al., 2000).

Se, biyolojik sistemlerde genellikle organik formda bulunur. Besinlerde selenometiyonin, Se-metil-selenosistein, selenosistein ve Se'un disülfid dimeri selenosistin olmak üzere birçok inorganik Se formu belirlenmiştir (Björnstedt et al., 1997). Selenoamino asitler, selenoproteinler ve sentetik organik Se bileşenleri gibi bazı organik Se bileşenlerinin kanserden koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Rayman, 2000 ; Chen et al., 2008). Birçok klinik öncesi araştırmada, epidemiyolojik ve deneysel hayvan modellerindeki çalışmalarda Se bileşenlerinin kanserden koruyucu rol oynadığı desteklenmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar Se bileşenlerinin kanserden koruyucu

aktivitesinin belirlenmesinde uygulanan dozun ve kullanılan Se'un kimyasal yapısının önemini göstermektedir (El-Bayoumy and Sinha, 2004). Günümüzde Se'un antikanser etkinliğinin gösterilmesinde birçok mekanizma olduğu düşünülmektedir (Whanger, 2004). Bunlar hücre apoptozisi, hücre çoğalmasının inhibisyonu, immün sistem uyarılması ve anjiyogenezisin inhibisyonudur. Bu potansiyel mekanizmalar arasında en çok hücre apoptozisi üzerinde durulmaktadır ve Se bileşinlerinin kanserden koruyucu etkinliği açısından önemli olduğu düşünülmektedir (El-Bayoumy and Sinha, 2004).

Se'a gereklilik ve onun insan sağlığına yararlı rolü birkaç yıldır bilinmektedir. Yüksek oksidatif stres ve azalmış AO savunma arasında bir dengesizliğin çeşitli karaciğer hastalıklarına neden olduğu ileri sürülmüştür. Bu nedenle, Se dahil olmak üzere AO'lar karaciğerde oksidatif stres üreten zehirin zararlı etkilerini en aza indirmek için yararlı olabilir (Zhu et al., 2012).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Deneysel çalışmamızda sağlıklı, erkek, 200±20 gram ağırlığında, yaklaşık 3 aylık, Sprague-Dawley cinsi, albino sıçanlar kullanıldı. Tüm deney hayvanları T.C. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TİCAM)'nden temin edilerek Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi Laboratuvarı'nda normal musluk suyu ve pellet yemle standart bir çevre yaşamında beslendi.

#### 3.1. Kullanılan Gereçler

Hassas Terazi	: Super Scale-Sadaver, Türkiye
Etüv	: EN 120, nüve incubator, Türkiye
Santrifüj Cihazı	: NF 400R, Türkiye
Karıştırıcı (Vortex)	: Dragon Lab MX-S(F), Çin
Kan Sayım Cihazı	: MS 4S, Fransa
İstatistik Programı	: SPSS 21.0, Amerika

#### 3.2. Yöntemlerin Uygulanması

##### 3.2.1. Deney hayvanlarının hazırlanması

Tüm deney hayvanlarının enjeksiyondan önce bir hafta süre ile ortam koşullarına adaptasyonu sağlanmıştır. Deney süresince 12:12 aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı (22±2 C°) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldı. Sıçanlar tablo 3.2.1.1.'de gösterildiği gibi her grupta 7 hayvan olacak şekilde kontrol dahil 6 gruba ayrıldı.

Deney bittiğinde, tüm sıçanların etik kurallarına uygun olarak, ketamin/ksilazin anestezisi altında toraksı açılıp yüreğe enjektörle girilerek kalp kanı yapılacak işleme göre, normal ve EDTA'lı tüplere alındı.

### 3.2.2. Siklofosfamid ve selenyum uygulaması

İntraperitoneal (i.p) olarak uygulanan CP (Sigma C0768-10G, Amerika) ve i.p olarak kullanılan Se (Sigma 209643-50G, Amerika) ticari olarak temin edildi. Bu maddelerden, CP'nin 500 mg'ı 25 mL bidistile suda çözülerek enjeksiyona hazır duruma getirildi. Kimyasal madde enjeksiyonları, çözeltilerin taze olarak hazırlanmasından sonra, steril tek kullanımlık enjektörler ile intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı.

CP'nin 150 mg/kg'lık tek dozu kullanıldı (Tablo 3.2.1.1.). Deneylerimizde Se'un iki farklı dozu (0.5 ve 1 mg/kg) kullanıldı (Tablo 3.2.1.2.).

Se'un 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozları 0.5 mL serum fizyolojikte (SF) eritilerek çözelti hazırlanacaktır ve i.p. olarak uygulandı.

Bütün hayvanlar ilk enjeksiyondan ve öldürülmeden önce tartılarak ağırlıkları saptandı ve böylece uygulanacak ilaç dozları belirlendi.

Sadece CP verilen 2. gruptaki hayvanlar CP enjeksiyonundan 1 gün sonra anestezi edildi. CP ile birlikte Se verilen gruplarda Se uygulamasına CP uygulamasından 5 gün önce başlanacak ve deney süresince devam edildi.

6. gün hayvanlar tekrar tartılarak uygulanacak CP dozu belirlendi ve böylece 6. gün CP+Se verildi. Yedinci gün hayvanlar anestezi edilerek periferik kan ve karaciğerleri alındı (Ayhanci et al., 2009).





### **3.3. Kan Alımı ve Serum Örneklerinin Hazırlanması**

Tüm deneysel çalışmalar steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Ketamin/ksilazin ile anestezi edilmiş hayvanlardan intrakardiyak kan alımı yapılmıştır. Alınan kan örnekleri 10 dakika 3000 rpm devirde santrifüjlenecek ve serumlar elde edilmiştir (Theocharis et al., 2001). Polietilen tüplere aktarılan serum örnekleri biyokimyasal analizler için -80°C derin dondurucuda korunmuştur.

Karaciğer hücrelerinin olası fonksiyon bozukluğunu tespit etmek amacıyla biyokimyasal olarak serum örneklerinde alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) ve alkalin fosfataz (ALP) enzimlerinin seviyeleri belirlenmiştir.

#### **3.3.1. AST, ALT ve ALP değerlerinin belirlenmesi**

Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanlardan tüplere intrakardiyak olarak alınan kan örnekleri 3000 devir/dakika'da santrifüj edilerek serumlar elde edilmiştir. Alınan serum örneklerinde AST, ALT ve ALP değerleri Roche Cobas Integra 400 otoanalizöründe Roche kitleri kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü.

### **3.4. Histolojik Değerlendirmeler**

Otopsileri yapılan sıçanların karaciğerleri dikkatli bir şekilde kesilip alındı, serum fizyolojik ile temizlendi. Daha sonra, %10'luk formalin bulunan renkli şişelere konuldu. Organlar alındıktan üç saat sonra fiksatifleri yeniden değiştirilerek daha iyi fikse edilmeleri sağlandı. Rutin histolojik doku takibinden sonra parafin blokları hazırlandı dokulardan alınacak 5-6 mikronluk kesitler hematoksilin-eosin boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendikten sonra Olympus marka DP70 kamera ile fotoğrafları çekildi.

### **3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler**

Yapılacak olan projenin bilimsel çalışmada, normalite testleri sonucuna göre parametrik ve non parametrik testlerden yararlanılacak olup, sürekli nicel veriler; n, ortalama ve standart sapma olarak, nitel veriler ise n, ortanca değer, 25'inci ve 75'inci yüzdelerik değerler olarak ifade edilecektir.

Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal değer (*p*) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar,  $p < 0.05$  olduğunda anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Biyokimyasal Bulgular

150 mg/kg CP verilen deney grubu, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney gruplarının ve serum fizyolojik (SF) verilen kontrol grubunun AST, ALT ve ALP ortalama değerleri Tablo 4.1.1.'de gsterilmiştir.

150 mg/kg CP verilen deney grubunda AST, ALT ve ALP seviyeleri kontrole göre sırasıyla %226, %145 ve %88 oranında artış gstermiştir ( $p<0.05$ ).

150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grubu kontrol grubuyla AST, ALT ve ALP düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında AST değeri kontrole göre %120 oranında artış gsterirken ( $p<0.05$ ) ALT ve ALP değerlerindeki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubu kontrol grubuyla ALT, AST ve ALP düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında ise, AST değeri kontrole göre %34 oranında artış gsterirken ( $p<0.05$ ), ALT ve ALP değerlerindeki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

0.5 mg/kg Se, 1 mg/kg Se ve kontrol grupları arasında AST, ALT ve ALP değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 4.1.2. ).

**Tablo 4.1.1.** 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ile kontrol gruplarının AST, ALT ve ALP ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması.

GRUPLAR (n=7)	AST (U/L)	<i>p</i>	ALT (U/L)	<i>P</i>	ALP (U/L)	<i>p</i>
KONTROL	104,77±4,55	*	66,76±6,17	*	160,35±18,66	*
II. GRUP 150 mg/kg CP	341,56±30,53		163,62±18,62		301,95±54,37	
KONTROL	104,77±4,55	*	66,76±6,17	0	160,35±18,66	0
V. GRUP 150+0.5 mg/kg CP+Se	231,41±30,15		78,93±6,65		202,41±25,72	
KONTROL	104,77±4,55	*	66,76±6,17	0	160,35±18,66	0
VI. GRUP 150+1 mg/kg CP+Se	141,24±13,03		61,37±10,84		153,28±20,58	

0 :  $p > 0.05$ , fark yok \* :  $p < 0.05$ , fark var ± : ortalama değer / standart sapma

**Tablo 4.1.2.** 0.5 mg/kg Se ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ve bunların kontrol gruplarının AST, ALT ve ALP ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

GRUPLAR (n=7)	AST (U/L)	<i>P</i>	ALT (U/L)	<i>p</i>	ALP (U/L)	<i>p</i>
KONTROL	104,77±4,55	0	66,76±6,17	0	160,35±18,66	0
III. GRUP 0.5 mg/kg Se	125,06±13,88		60,02±7,32		160,18±18,43	
KONTROL	104,77±4,55	0	66,76±6,17	0	160,35±18,66	0
IV. GRUP 1 mg/kg Se	132,74±21,27		52,38±8,22		152,78±13,79	

0:  $p>0.05$ , fark yok \* :  $p<0.05$ , fark var ± : ortalama değer / standart sapma

150 mg/kg CP verilen deney grubu ile 150+0.5 CP+Se verilen deney grupları kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki AST, ALT ve ALP değerleri 150 mg/kg CP uygulanan gruba göre sırasıyla %47, %107 ve %49 oranında azalma göstermiştir ( $p<0.05$ ).

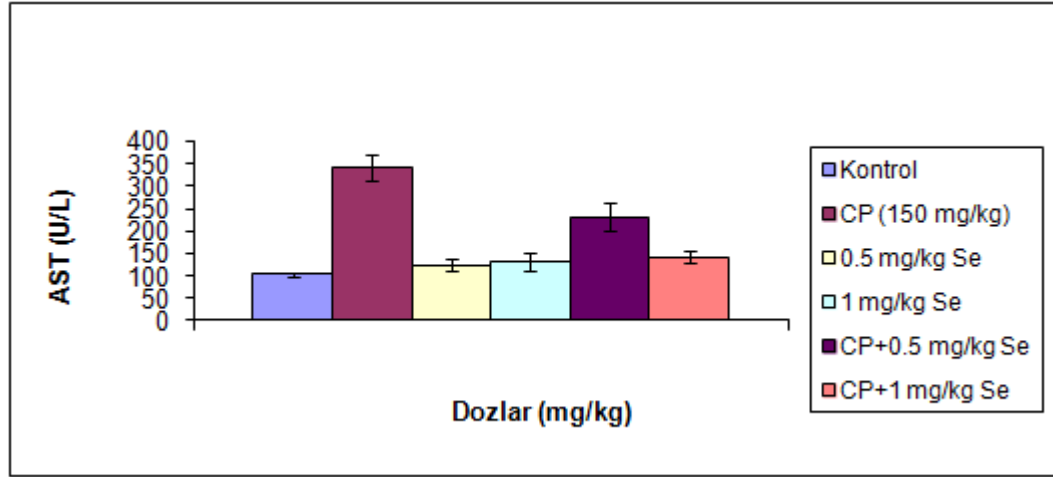
150 mg/kg CP verilen deney grubu ile 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki AST, ALT ve ALP değerleri 150 mg/kg CP uygulanan gruba göre sırasıyla %141, %166 ve %96 oranında azalma göstermiştir ( $p<0.05$ ).

150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grubu ile 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki AST, ALT ve ALP değerleri 150+0.5 mg/kg CP+Se uygulanan gruba göre sırasıyla %63, %28 ve %32 oranında azalma göstermiştir ( $p<0.05$ ).

Bütün deney grupları AST, ALT ve ALP değerleri bakımından karşılaştırılmış; AST, ALT, ALP değerleri ayrıca grafiksel olarak da gösterilmiştir.

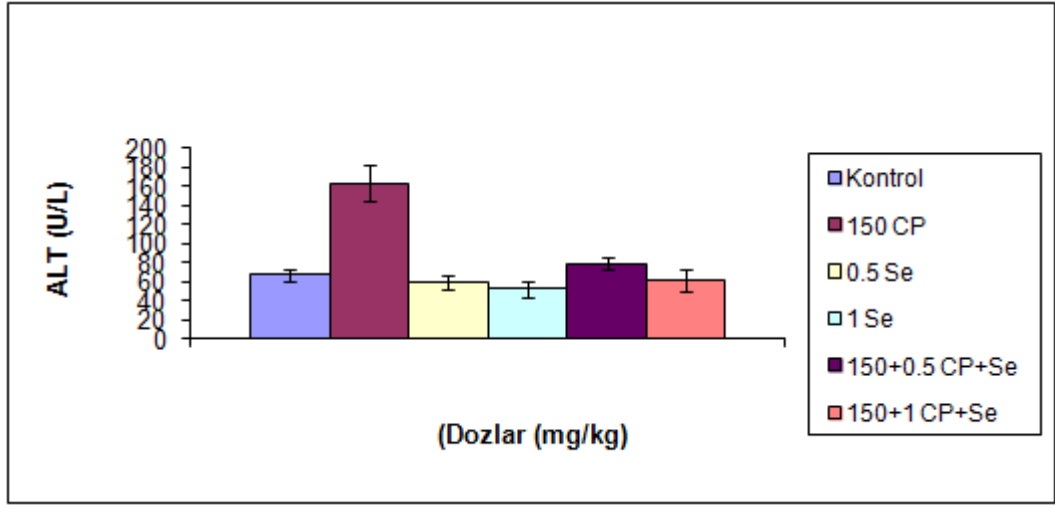


**Şekil 4.1.1.** 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP verilen deney grupları ve kontrol grubunun AST seviyeleri.

Şekil 4.1.1.'de de görüldüğü gibi 150 mg/kg CP verilen deney grubu, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları AST bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0.001$ ). Bu deney gruplarının hepsi kontrol grubuna göre AST düzeyi bakımından farklı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). 150 mg/kg CP ile birlikte verilen Se'un 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozları AST seviyesini kontrol düzeyine yaklaştırmıştır. CP ile beraber 1 mg/kg Se verilen grup kontrolle kıyaslandığında çok daha etkili bir sonuç alınmıştır. 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ile kontrol grubu arasında AST düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

150 mg/kg CP verilen deney grubu ile 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları AST değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0.001$ ).

0.5 mg/kg Se verilen deney grubu ile 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları AST değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0.001$ ). 1 mg/kg Se verilen deney grubu ile 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları AST değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0.001$ ).

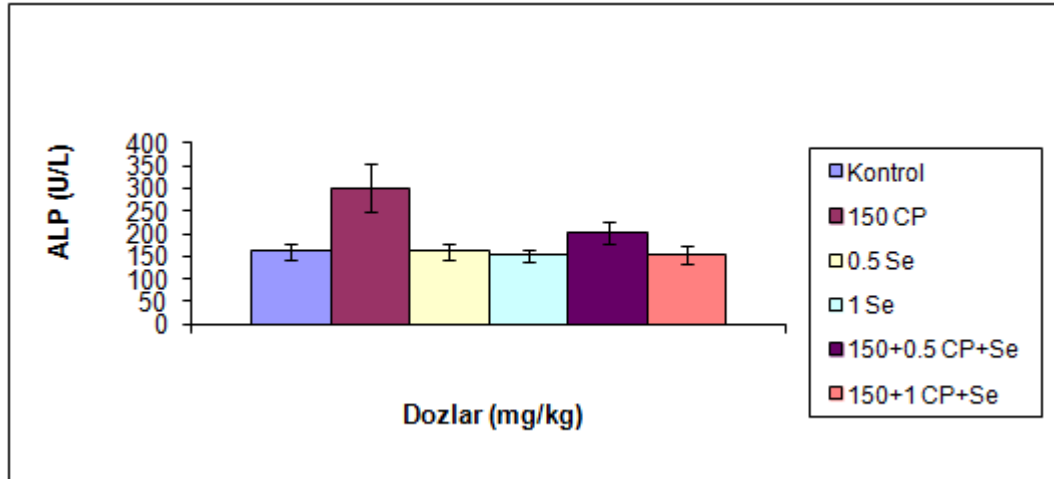


**Şekil 4.1.2.** 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP verilen deney grupları ve kontrol grubunun ALT seviyeleri.

Şekil 4.1.2.'de görüldüğü gibi 150 mg/kg CP verilen deney grubu, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ALT bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0.001$ ). Bu deney gruplarından 150 mg/kg CP verilen deney grubu kontrol grubuna göre ALT düzeyi bakımından ileri derecede önemli bir fark göstermiştir ( $p<0.001$ ). 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ile kontrol grubu arasında ALT düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).

0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ile kontrol grubu arasında ALT düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ile 150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grubu ALT değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark gösterirken ( $p<0.001$ ) 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubu ile karşılaştırıldıklarında ALT düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. 150 mg/kg CP ile birlikte verilen Se'un 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozları karşılaştırıldığında ise ALT değerleri bakımından ileri derecede önemli bir fark saptanmıştır ( $p<0.001$ ). 150 mg/kg CP ile birlikte verilen Se'un 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozları ALT seviyesini kontrol düzeyine yaklaştırmıştır. Bu gruplardan CP ile beraber 0.5 mg/kg selenyum verilen grupta kontrole göre çok önemli bir değişim gözlenmezken,

CP ile beraber 1 mg/kg Se verilen grup kontrolle kıyaslandığında çok daha etkili bir sonuç alınmıştır.



**Şekil 4.1.3.** 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP verilen deney grupları ve kontrol grubunun ALP seviyeleri.

Şekil 4.1.3.'te görüldüğü gibi 150 mg/kg CP verilen deney grubu, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ALP bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0.001$ ). Bu deney gruplarından 150 mg/kg CP verilen deney grubu kontrol grubuna göre ALP düzeyi bakımından ileri derecede önemli bir fark gösterirken ( $p<0.001$ ) 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ile kontrol grubu arasında ALP düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır.

150 mg/kg CP verilen deney grubu ile kontrol grubu, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ALP değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ).

0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ile kontrol grubu arasında ALP düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. 150 mg/kg CP ile birlikte verilen Se'un 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozları ALP seviyesini kontrol düzeyine yaklaştırmıştır.

0.5 mg/kg Se verilen deney grubu ile 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen gruplar ALP düzeyleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel



açından önemli bir fark bulunmazken, 1 mg/kg Se verilen deney grubu 150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grubu ile ALP düzeyleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ).

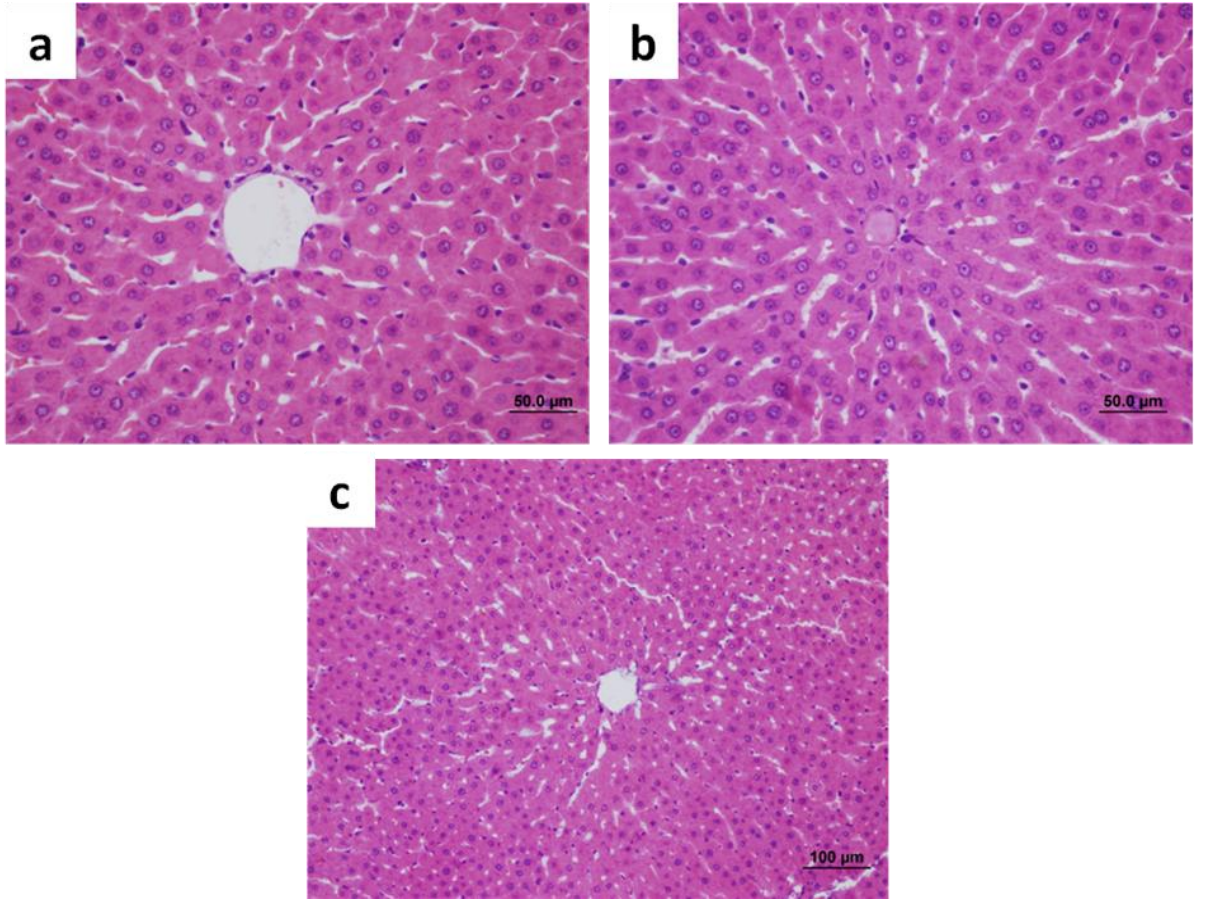
150 mg/kg CP ile birlikte verilen Se'un 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozları ALP düzeyi bakımından kıyaslandığında istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Bu deney gruplarından sadece 150 mg/kg CP verilen grupta, kontrole göre ALP düzeyi bakımından ileri derecede önemli bir fark saptanmıştır ( $p<0.001$ ).

Şekil 4.1.3.'de görüldüğü gibi, CP nedenli toksisite Se'un 0.5 mg/kg'lık dozunda önemli bir değişiklik gözlenmezken 1 mg/kg'lık dozu ALP seviyesini kontrole yaklaştırmıştır.

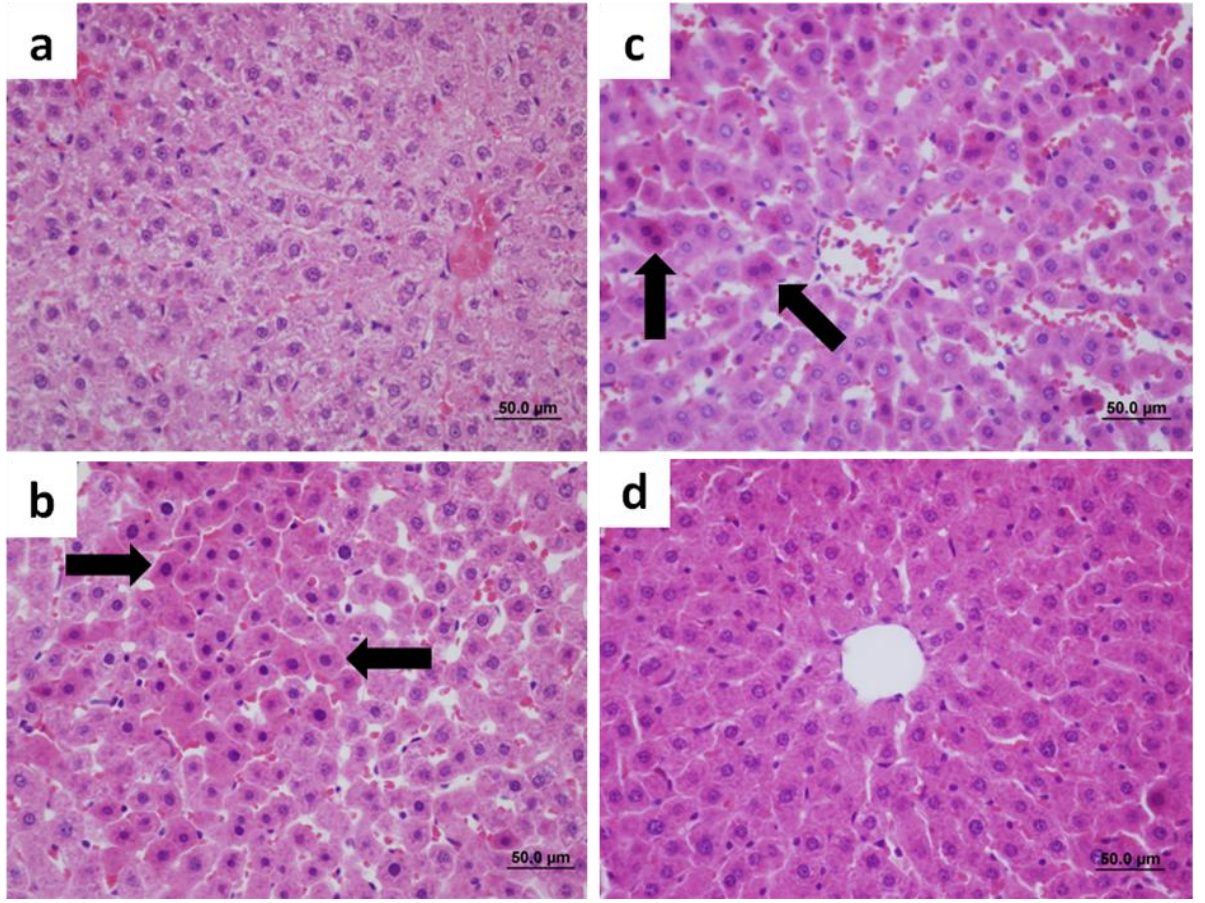
## 4.2. Histolojik Bulgular

Histolojik inceleme sonuçlarına göre; kontrol grubu, 0.5 mg/kg dozunda veya 1 mg/kg dozunda selenyum verilen grupların karaciğer dokularında normal histolojik görünüm saptandı (**Şekil 4.2.1.**). Hepatositlerin santral ven çevresinde radyer olarak kordonlar halinde düzenlendiği, gevşek kromatinli çekirdeklerinin içinde çekirdekçiklerin seçilebildiği ve sitoplazmanın homojen görünümlü ve hafif eozinofilik boyandığı görüldü. CP verilen gruplara ait karaciğer kesitleri **Şekil 4.2.2.**'de görülmektedir. Tek başına CP verilen gruba ait ratların karaciğerlerinde hepatositlerin sitoplazmalarında hidropik dejenerasyona işaret eden bulanıklaşma ve sitoplazma homojenitesinde bozulmanın yanı sıra bazı hepatositlerin çekirdeklerinde kromatin yoğunlaşması sonucu koyu boyanma ve küçülme, çekirdek sınırlarında düzensizlik ve sitoplazmada eozinofili artışı dikkati çekti. Ayrıca sinüzoidlerde genişleme sonucu hepatositlerin birbirinden uzaklaştığı görüldü. Damarsal yapılarda konjesyon artışı ve eritrositlerde birikme saptandı. CP ile birlikte 0.5 mg/kg dozunda selenyum verilen grupta tek başına CP verilen gruba kıyasla karaciğerdeki değişikliklerin azaldığı, ancak 0.5 mg/kg dozunda selenyum eklenmesinin CP'nin neden olduğu bozuklukları yeterince önleyemediği görüldü. CP ile birlikte 1 mg/kg dozunda selenyum eklenen gruba ait karaciğer kesitlerinde yapılan incelemede ise bazı küçük bölgesel değişikliklere karşın histolojik yapının daha iyi korunduğu saptandı.

Sonuç olarak, CP verilmesinin ratların karaciğerlerinde bazı histolojik bozukluklara yol açtığı, 0.5 mg/kg dozunda selenyum eklenmesinin CP kaynaklı hasarı yeterince önleyemediği, 1 mg/kg dozunda selenyum eklenmesinin ise CP kaynaklı karaciğer hasarını önlemede daha etkili olduğu sonucuna varıldı.



**Şekil 4.2.1.** Kontrol gruplarına ait karaciğer kesitleri, H+E. **a:** Sadece serum fizyolojik verilen grupta, **b:** Sadece 0.5 mg/kg/ selenyum verilen grupta, **c:** Sadece 1 mg/kg selenyum verilen grupta normal histolojiye sahip karaciğer kesitleri izlenmektedir.



**Şekil 4.2.2.** CP verilen gruplara ait karaciğer kesitleri, H+E. **a:** Sadece 150 mg/kg CP verilen grupta damarlarda konjesyon, hepatositlerde sitoplazmada bulanıklaşma ve homojenite kaybı, **b:** Tek başına 150 mg/kg CP verilen grupta bazı hepatositlerde sitoplazmanın koyu eozinofilik boyanması ve çekirdeklerde koyulaşıp küçülmeler (*oklar*) sinüsoidlerde genişlemeler, **c:** CP'nin yanında 0.5 mg/kg selenyum eklenen grupta sinüsoidlerde genişleme ve bazı hepatositlerde eozinofili artışı (*oklar*), **d:** CP'nin yanında 1 mg/kg selenyum eklenen grupta normale yakın bir histolojik görünüm izlenmektedir.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Siklofosfamid (CP) kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan etkili bir kemoterapötik ajandır. CP'nin antitümoral etkinliği, yüksek dozda kullanılabilmesine bağlıdır. Ancak yüksek doz CP kullanımı hematopoietik depresyon, ürotoksisite, nefrotoksisite ve hepatotoksisiteyi de içeren toksik etkilere neden olmaktadır. CP'nin hepatotoksik etkisiyle ilgili yapılan çalışmalar oldukça azdır ancak diğer kemoterapötiklerle beraber uygulandığında yüksek oranda karaciğer toksisitesine neden olduğu bildirilmiştir (DeLeve et al., 1996; Shaunak et al., 1988; Kumar and Kuttan, 2004; Abraham and Isaac, 2011).

Çalışmamızda CP'nin karaciğerdeki toksik etkisini ve dolayısı ile koruyucu ajana (Se) bağlı olarak gelişen değişiklikleri belirlemek için karaciğerin başlıca enzimleri olan alanintransaminaz (ALT), aspartattransaminaz (AST) ve alkalenfosfataz (ALP) enzim düzeyleri ölçülmüştür. Deneysel modellerde genellikle CP'nin 100 ve 150 mg/kg'lık dozları kullanılmakta ve hayvanlar CP enjeksiyonundan 6-72 saat sonra sakrifiye edilmektedir (Ayhancı et al., 2010; Abraham and Isaac, 2011). Bizim çalışmamızda ise CP'nin 150 mg/kg'lık dozu kullanılarak hayvanlar CP uygulamasından 24 saat sonra sakrifiye edilmiştir.

Sitotoksik bir ilaç olan CP karaciğerde hidrosillenerek metabolitleri olan fosforamid mustard (phosphoramid mustard = PAM) ve akroleine (acrolein = ACR) dönüşmektedir. CP'nin antineoplastik etkileri PAM ile ilişkilidir. PAM'ın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, CP'nin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu düşünülmektedir. CP'nin toksik etkisi aktif metaboliti olan ACR ile ilgilidir. ACR doku antioksidan (AO) savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda serbest radikal (SOR) oluşumuna yol açar (Kawabata et al., 1990; Masuda et al., 2006).

Reaktif oksijen türleri DNA, protein, karbohidrat, lipid gibi önemli makromoleküller ile gelişigüzel reaksiyona girerek fizyolojik sürecin bozulmasına neden olan yüksek reaktif moleküllerdir (Abuja and Albertini, 2001). Vücuttaki

fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla oksidan-antioksidan denge olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin bozulması oksidatif strese yol açar (Dündar and Aslan, 1999). Oksidatif stres SOR miktarındaki artışla seyreden bir durumdur. Bu artış lipid peroksidasyonuna neden olur (Virag et al., 2003).

Reaktif oksijen ürünleri kimyasal olarak daha stabil bir yapıya ulaşmak için elektron aktarmaya meyillidirler. Başka moleküller ile çok kolay elektron alış verişine girip onların yapılarını bozarlar. Çeşitli hücrel bileşiklere elektron aktarımı hücrel hasara yol açmaktadır. SOR'lar, doymamış yağ asitleri içeren membran lipidlerini protein, karbonhidrat, nükleik asitler, enzimler ve kofaktörler gibi diğer biyomoleküllere nazaran daha fazla etkilemektedir. Membran lipidleri ile etkileşim membran yapısının bozulmasına, permeabilite artışına ve hücre hasarına yol açmaktadır (Droge, 2002). Oksidatif stres, hücre membranı ve diğer hücre bileşenlerinin değişimiyle sonuçlanan lipidlerin ve diğer makromoleküllerin oksidatif tahribatına yol açarak hücrenin nekroz ve ölümüne dolayısıyla doku hasarı ve kronik hastalıklara sebep olmaktadır (Tokoyuni, 1999; Baynes, 1999; Lykkesfeldt and Svendsen, 2007). CP uygulamasının karaciğer nekrozuna neden olduğu bazı klinik çalışmalarda da gösterilmiştir (Shaunak et al., 1998). Histolojik bulgularımızda CP verildiğinde hepatositlerin dejenarasyona uğradığı görülmüştür. Bu gözlemler araştırmacılar tarafından ileri sürülen bulguları desteklemektedir. Bu toksisite muhtemelen SOR artışına bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stresle ilişkilidir.

Abraham ve Sugumar'ın (2007), yapmış olduğu çalışmalarında CP nedenli karaciğer hasarında ilk haftalarda karaciğer AO düzeyinin savunma mekanizması olarak bu hasar önlediği ya da minimize ettiği gösterilmiştir. Senthilkumar et al., (2006) tarafından yapılan çalışmada ise CP uygulanan ratların karaciğer dokularında hepatositlerde yaygın belirgin şişme ve sinusoidal alanlarda daralma gözlenmiştir. Bütün bu patolojik durumlar squalen uygulanarak tedavi edilen ratlarda iyileşme göstermiştir. Squalenle tedavi edilen böbrek ve karaciğerde tubuler epitelde şişmenin neredeyse normal olduğu ve santral ven etrafındaki hepatik hücrelerin şişmesinin ılımlı olduğu gözlenmektedir.

Çalışmamızda tek başına CP verilen gruba ait ratların karaciğerlerinde hepatositlerin sitoplazmalarında hidropik dejenerasyona işaret eden bulanıklaşma ve sitoplazma homojenitesinde bozulmanın yanı sıra bazı hepatositlerin çekirdeklerinde kromatin yoğunlaşması sonucu koyu boyanma ve küçülme, çekirdek sınırlarında düzensizlik ve sitoplazmada eozinofili artışı belirlendi. Ayrıca sinüzoidlerde genişleme sonucu hepatositlerin birbirinden uzaklaştığı görüldü. Damarsal yapılarda konjesyon artışı ve eritrositlerde birikme saptandı.

CP'nin indüklediği karaciğer hasarıyla ilgili yapılan çalışmalarda sıçanların serumlarında karaciğer fonksiyonlarını belirleyici olan enzim (AST, ALT, ALP, LDH ve GGT ) aktivitelerinin önemli oranda arttığı tespit edilmiştir (Lee et al., 2004; Senthilkumar et al., 2006; Shanmugarajan et al., 2008). Çalışmamızda AST, ALT ve ALP düzeylerinin CP verilen deney grubunda oldukça arttığı saptanmıştır. CP uygulanan deney grubunda AST %274, ALT %155 ve ALP %12 gibi büyük oranlarda artmıştır. Bu durum karaciğerin yapısal bütünlüğünün önemli oranda bozulduğunu göstermektedir. CP'ye bağlı olarak serum enzim düzeylerinin yükselmesi karaciğer dokusunda oluşan CP nedenli oksidatif hasarın göstergesi olabilir.

CP'nin çeşitli organ ve dokularda toksik etkisi birçok çalışmada kanıtlanmıştır ancak oksidatif strese neden olmasına rağmen CP nedenli hepatoksisite fazla çalışılmamıştır. Bu çalışmalarda kullanılan bileşikler etkinliklerinin yetersizliği yüzünden geniş klinik kullanımlar için onaylanmamaktadır. Bu bileşikler aynı zamanda tümör dokusunda alkilleyici ajanlar tarafından oluşturulan toksisiteye karşı sitoprotektivitede seçici değildirler (Atessahin et al., 2003; Senthilkumar et al., 2006; Ayhancı et al., 2010). Bu yüzden CP'nin toksik etkilerini önleyerek daha yüksek dozlarda kullanılmasına olanak sağlayacak, tümör koruyucu ve tümör büyümesini uyarıcı özellikler olmaksızın normal dokuları kemoterapi nedenli toksisitelerden koruyabilecek yeni ajanlara ihtiyaç vardır (Pool et al., 1988; Ayhancı et al., 2010).

Organizma reaktif oksijen türlerinin etkilerini antagonize eden çeşitli AO sahiptir. Selenyum (Se) AO olarak vücutta önemli görevler üstlenmiştir. Se eksikliğinde doku hasarları oluşabilmektedir. Nitekim selenyum eksikliği oluşturulan ratlarda önemli karaciğer değişikliklerinin olduğu görülmüştür (Al-Bader et al., 1998). Se bir eser

elementtir. İnsan organizmasında bir dizi biyolojik fonksiyonda rol oynamaktadır. Önemli fonksiyonlarından biri antioksidan özelliğidir. Bu özelliği sayesinde doku hasarında koruyucu olabileceği ifade edilmektedir. Se eksikliği oluşturulan ratlarda da önemli karaciğer değişikliklerinin olduğu görülmüştür (Al-Bader et al., 1998). Öte yandan karaciğer sirozunda Se eksikliğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Navarro-Alarcon et al., 2002). Hayvan çalışmalarında Se'un hepatik fibrozisi geriletmediği gösterilmiştir (Wasser et al., 2001).

Se'un bazı kanser tiplerine karşı koruyucu olabileceği, erkek fertilitasını artırdığı, kardiyovasküler mortalitede azalma sağladığı ve astımda inflamatuvar araçların yapımını baskıladığı gösterilmiştir (Brown and Arthur, 2001). Se ilk araştırmalarda antikarsinojenik etkileri ile ilgi çekmiştir. İlk olarak 1969 yılında Se'un kansere karşı olası koruyucu etkisi Shamberger ve ark. tarafından bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yüksek miktarda Se alımı olan insanlarda azalmış kanser insidansı olduğu belirtilmiştir (Shamberger and Frost, 1969). El-Sharakly ve ark. (2007), Se'un düşük derişimlerde bir iz element olduğu, aynı zamanda GSH-Px enziminin bir bileşeni olduğunu belirtmişlerdir. Se eksikliğinin lipid peroksidasyonun artışıyla birlikte olduğunu bunun sonucunda hücre membran bütünlüğünün bozulduğunu saptamışlardır.

Bulgularımız Se'un karaciğeri koruyabileceği konusundaki düşüncelerimizi desteklemektedir. Çalışmamızda oluşan karaciğer doku hasarı CP metabolitleri tarafından membranın hasarlanması ile oluşmaktadır. Zira bu patolojik değişiklikler serum enzim düzeylerinin yükselmesiyle uyumludur. CP ile birlikte uyguladığımız Se'un her iki dozunda da bu doku hasarı ve nekroz gibi anormal patolojik bulguların azalması karaciğer dokusunun oksidatif hasara karşı korunduğu anlamına gelmektedir.

Verilerimiz doğrultusunda CP uygulamasının oksidatif stres ve doku hasarına neden olduğunu ve Se'un karaciğer dokusundaki hasarı SOR'ları elemine etme yoluyla normale yaklaştırdığını söyleyebiliriz. Bu nedenle de Se kemoterapi reçetelerinde antikanser ilaçların yan etkilerinin azaltılmasında etkili bir aday olabilir.



## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abraham P and Isaac B (2011) Ultrastructural Changes in the Rat Kidney After Single Dose of Cyclophosphamide-Possible Roles for Peroxisome Proliferation and Lysosomal Dysfunction in Cyclophosphamide-Induced Renal Damage. *Hum Exp Toxicol* . 2011; 30:1924.
- Abraham, P., Indirani, K., Sugumar, E., Sugumar, E., 2007, Effect of cyclophosphamide treatment on Selected Lysosomal enzymes in the kidney of rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 59, 143-149, p.
- Abuja P.M, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*,. 2001; 306:1-17.
- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.*, 121-126.
- Akkuş İ (1995) Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.
- Akman, H., Somuncu, S., Dikmen, G., Ayva, ğ., Soyer, T., Doğan, P., Çakmak, M., 2010, Protective effect of selenium on intussusception-induced ischemia/reperfusion intestinal oxidative injury in rats, *Turk J Med Sci*, 40 (3): 391-397 s.
- Al-Bader A, Abul H, Hussain T et al. Selenium and liver cirrhosis. *Mol Cell Biochem* 1998 Aug; 185(1-2): 1-6.
- Alexandrescu DT, Wiernik PH and Dutcher JP. Chemotherapy Toxicities and Complications. In: Young NS, Gerson SL, High KA (Eds). *Clinical Hematology*, MOSBY Elsevier, Philadelphia 2006, Chapter 90, p 1144-1154.
- Al-Jumaily E F ,. Khaleel F M , , *Current Res. Jr. Biological Sc*, 2012;4(5): 638-642.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M., 1993. Oxidants, Antioxidants, and the Degenerative Diseases of Aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Sep 1; 90(17), 7915-7922.
- Antunes, LM, Darin, JD, Bianchi, MP. Protective effects of vitamin C against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats. *Pharmacol Res* 2000; 41 (4): 405-11.
- Arteel, G.E., and Sies, H., 2001. The Biochemistry of Selenium and the Glutathione System. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 10, 153–158.
- Aslan R, Dündar Y (1999) Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cer. Tıp Bil. Der*, 2(2):134-42.
- Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayiroğlu F (1995) Serbest Radikal Türlerinin Membran Lipid Peroksidasyonuna Etkileri ve Hüresel Antioksidan Savunma. *Sağl. Bil. Der*, 2:137-42.
- Aslan, R (1999) Homostatik Mekanizmanın Korunması ve Sağaltımda Antioksidanlar. *İlaç Ted. Der*, 8(12):475-80.
- Atagündüz P. Antikanser ilaçlar. In: Oktay Ş (ed). *Farmakoloji (çeviri)*. 2.Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 1998:373-400.
- Atessahin A, Karahan I, Yılmaz S, Ceribasi AO, Pirincci I (2003) The effect of manganese chloride on gentamicine-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 48:637-642, p.
- Attila G, Matyar S. Plazma enzimlerinin tanısal değerleri. *Mersin On Tıp Fak Derg* 2002; 1: 73-82.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Aydın, A., Sayal, A. ve Işimer, A., 2001. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayn Kitabı.

Ayhancı A, Gunes S, Sahinturk V, Appak S, Uyar R, Cengiz M, Altuner Y, Yaman S (2010) Seleno L-Methionine Acts on Cyclophosphamide-Induced Kidney Toxicity. Biol Trace Elem Res (2010) 136:171-179. DOI 10.1007/s12011-009-8535-2.

Ayhancı A, Yaman S, Appak S, and Gunes S (2009) Hematoprotective Effect of Seleno-L-Methionine on Cyclophosphamide Toxicity in Rats. Drug and Chemical Toxicology, 32(4): 424-428.

Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. Diabetes 1999; 48: 1-9.

Berger, M. M. (2005). Can oxidative damage be treated nutritionally? Clinical Nutrition, 24(2), 172-183.

Berk, M., Ng, F., Dean, O., Dodd, S., Bush, A. I. (2008). Glutathione: a novel treatment target in psychiatry. Trends in Pharmacological Science, 29(7), 346-351.

Bhuvaramurthy, V., Balasubramanian, N., Govindasamy, S. (1996). Effect of radiotherapy and chemoradiotherapy on circulating antioxidant system of human uterine cervical carcinoma. Molecular and Cellular Biochemistry, 158(1), 17-23.

Björnstedt, M., Kumar, S., Björnstedt, L., Spyrou, G., Holmgren, A. (1997). Selenium and Thioredoxin and Glutaredoxin System. Biomed Environ Sci., 10:271-9.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Blumenthal, R. D., Lew, W., Reising, A., Soyne, D., Osorio, L., Ying, Z., Goldenberg, D. M. (2000). Antioxidant vitamins reduce normal tissue toxicity induced by radioimmunotherapy. *International Journal of Cancer*, 86(2), 276-280.
- Bokser L, Szende B, Schally AV (1990) Protective Effects of D-Trp-luteinising Hormone-Releasing in Female Microcapsules Against Cyclophosphamide-Induced Gonadotoxicity in Female Rats. *Br. J. Cancer*, 61: 861-865.
- Bramwell VCH, Mourisden HI, Santaro A (1987) Cyclophosphamide versus Ifosfamide: Final Report of a Randomized Phase 2 Trial in Adult Soft Tissue Sarcomas. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 23 (3): 311-321.
- Bramwell VCH, Mourisden HI, Santaro A (1987) Cyclophosphamide versus Ifosfamide: Final Report of a Randomized Phase 2 Trial in Adult Soft Tissue Sarcomas. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 23 (3): 311-321.
- Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr* 2001;4:593-9.
- Burtis, C. A., Ashwood E. R., 2005, *Klinik kimyada temel ilkeler*, (Çev. D. Aslan), Palme yayıncılık, 352-356 s, 747-756, s.
- Büyükakyüz N., Altuğ T., Yaltırık M. (2000). Kanser proflaksisinde antioksidan maddelerden E vitamini ve selenyumun önemi. *Dişhekimliğinde Klinik Derg.* 12: 136-139.
- Cemeli E, Baumgartner A and Anderson D. Antioxidants and the Comet assay. *Mutat Res* 2009; 681: 51-67.
- Champe, R.A., Harvey R. A. And Ferrier D.R., 2007, *Biyokimya*, Nobel Tıp Kitapevleri LTD.ŞTİ., 248-249, s.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Chao JC, Huang CH, Wu SJ, Yang SC, Chang NC, Shieh MJ, Lo PN: Effects of beta-carotene, vitamin C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers. *J Nutr Biochem.* 13:427-434, 2002.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F., 1993. An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br. Med. Bull.*, Jul; 49(3), 481-93.
- Chen, T., Zheng, W., Wong, Y.S., Yang, F. (2008). Mitochondria-Mediated Apoptosis in Human Breast Carcinoma MCF7 Cells Induced By A Novel Selenadiazole Derivative. *Biomed Pharmacoter* 62:77-84.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C., (2005). Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology&Medicine.* 39, 841-852.
- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., LI, A.M.Y., Richardson, B.J. and LAM, P.K.S., 2001. Relationship Between Tissue Concentrations of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Antioxidative Responses of Marine Mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicol.*, 52, 189-203.
- Clemens, M. R., Waladkhani, A. R., Bublitz, K., Ehninger, G., Gey, K. F. (1997). Supplementation with antioxidants prior to bone marrow transplantation. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 109(19), 771-776.
- Cnubben, N.H.P., Rietjens, I.M.C.M., Wortelboer, H., Van-Zanden, J. and Van Bladeren, P.J., 2001. The Interplay of Glutathione Related Processes in Antioxidant Defense. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 10, 141-152.
- Coggins PR, Ravdin RG, Eisman SH. Clinical evaluation of a new alkylating agent: cytoxan (cyclophosphamide). *Cancer.* 1960;13:1254-60.
- Combs, G. F., Combs S. B. (1984). The nutritional biochemistry of selenium. *Ann Rev.*
- Combs, G.F. (2004). Status of selenium in prostate cancer prevention. *Br J Cancer* 91:195-199.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Combs, G.F., Jrand Gray WP., 1998. Chemopreventive agents: Selenium, Pharmacology & Therapeutics, 79:179-92.
- Cornelli U. Antioxidant use in nutraceuticals. Clin Dermatol 2009; 27: 175–94.
- Çiçek N M, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi, Güneş Kitabevi, 2. Baskı, 2006; 1413-1435, 101-107, 1301-1332.
- Davidson GP, Decker TR. Chemopreventive Role of Fruits and Vegetables in Oropharyngeal Cancer. Nutr Clin Pract 2009; 24: 250–60.
- Deaton C.M. and Marlin D.J., 2003. Exercise-Associated Oxidative Stress, Clin. Tech. Equine Pract, Vol 2, No 3, 278-291.
- DeLeve, L.D., 1996, Cellular target of cyclophosphamide toxicity in the murine liver: Role of glutathione and site of metabolic activation, Hepatology, 24(4):830-837, p.
- Desouza CA, Santini G, Marino G, Nati S, Congiu AM, Vigorito AC, et al. Amifostine (WR-2721), a cytoprotective agent during high-dose cyclophosphamide treatment of non-hodgkin's lymphomas: A phase II study. Braz J Med Boil Res. 2000;33:791–8.
- Diplock, A.T., Watkins, W.J., Heurson, M., 1986. Selenium and Heavy Metals. Ann. Clin. Res., 18: 55-60.
- Dilek, O.N., 2003, Serbest Radikaller ve Cerrahi. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği III. Ulusal Kongresi. Afyon, 23-30 Mart 2003:6.
- Diplock, A. 1998. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59 p., Belgium.
- Drake, E.N. (2006). Cancer Chemoprevention: Selenium As A Prooxidant, Not An Antioxidant. Medical Hypotheses 67,318-322.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002;82(1):47-95.
- Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. *Clinical chemistry*. 2000;46(12):2050-68.
- Dufour DR, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Diagnosis and Monitoring of Hepatic Injury. I. Performance Characteristics of Laboratory Tests. *Clinical Chemistry* 2000; 46: 2027-49.
- Dündar Y, Aslan R. Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü, *Hayvancılık Araştırma Dergisi*. 1999; 9(1-2): 32-39.
- El-Bayoumy, K., SINHA, R. (2004). Mechanisms of Mammary Cancer Chemoprevention By Organoselenium Compounds. *Mutat Res* 551:181-97.
- El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH.: Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and beta-carotene. *Food Chem Toxicol*. 42(10):1563-71; 2004.
- Elliot, J.G. 1999. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech*. 53(2); 46-48.
- El-Sharaky, A.S., Newairy, A.A., Badreldeen, M.M., Eweda, S.M., and Sheweita, S.A., 2007. Protective Role of Selenium Against Renal Toxicity Induced by Cadmium in Rats. *Toxicology*, 235: 185-193.
- Evangelou A, Kalpouzou G, Karkabounas S, Liasko R, Nonni A, Stefanou D, Kallistratos G. Dose-related preventive and therapeutic effects of antioxidants anticarcinogens on experimentally induced malignant tumors in Wistar rats. *Cancer Lett* 1997; 115: 105-111.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Fırat S. 1997. Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon , glutatyon peroksidaz, glutatyon- S-transferaz düzeyleri ve N-asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi. Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı, Uzm.Tezi, Ankara, 95s.
- Floyd J, Mirza I, Sachs B, Perry MC. Hepatotoxicity of chemotherapy. *Semin Oncol* 33:50-67, 2006.
- Foster L. H., Sumar S. (1997). Selenium in health and disease: a review. *Crit Rev Food Sci.*, 37: 211-228.
- Fridovich, I., 2001. Oxidative Stress. *Encyclopedia of Life Sciences*, Nature Publishing Group, www.els.com, 1-5.
- Fricke , P.M., Shaver, R.D., 2005. Managing Reproductive Disorders in DairyCows.Erişim:[http://www.wisc.edu/dysci/uwex/rep\\_phys/pubs/MngReproDisorders.pdf](http://www.wisc.edu/dysci/uwex/rep_phys/pubs/MngReproDisorders.pdf) . Erişim tarihi: 19.01.
- Futreal PA. Kasprzyk A. Birney E. Mullikin JC. Wooster R. Stratton M. (2001). Cancer and genomics. *Nature* 6822: 850-2.
- Ganther D.E. (1999) Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis* 20, 1657–1666.
- Gebre-Medhin M., Ewald U., Platin L. (1984). Elevated serum selenium in diabetic children. *Acta Pediatr Scand.*, 73: 109-114.
- Giacco R, Clemente G, Cipriano D, et al. Effects of the regular consumption of wholemeal wheat foods on cardiovascular risk factors in healthy people. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010; 20 (3): 186–94.



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Gilman, A., Goodman, L.S., "Chemotherapy of Neoplastic Diseases", The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th edition, Pergamon Press, U.S.A. 1240-1306 (1991).
- Glode M, Robinson J, Gould FS (1981) Protection from Cyclophosphamide-Induced Testicular Damage with an Analogue of Gonadotropin-Releasing Hormone, The Lancet, May 23, 1132-1136.
- Goldhaber, S.B., 2003, Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 38:232-242.
- Guemouri, L., Arthur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G. and Siest, G., 1991. Biological Variability of Superoxide Dismutase, Glutathione peroxidase, and Catalase in Blood. Clin. Chem., 37(11), 1932-1937.
- Gutteridge, J.M. and Halliwell, B., 2000. Free Radicals and Antioxidants in the Year 2000. A Historical Look to the Future. Ann. N. Y. Acad. Sci., 899, 136-147.
- Gutteridge, J. M. C. (1994). Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. Chemico-Biological Interactions, 91, 133-140, 1994.
- Gümrükçüoğlu, A. Serbest Radikaller. Erişim: [genetikbilimi.com/gen/serbest\\_radikaller](http://genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller) 28.01.2009.
- Gürer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? Free Radical Biology & Medicine 2000; 29: 927-945.
- Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. The American journal of gastroenterology. 1995;90(8):1250-7. Epub 1995/08/01.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1984. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. *Biochem. J.*, 219, 1-14.
- Halliwell, B., 1994. Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutr. Rev.* 52, 253-265.
- Halliwell, B. 1984. Oxygen radicals: A commonsense look at their nature and medical importance. *Medical Biology*, 62:71-77.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Third Edition, Oxford University Press. Inc., New York, 936s.
- Halliwell B. 1987. Free radicals and metal ions in health and disease. *Proc Nutr Soc.* Feb; 46 (1): 13-26.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: University Press
- Hamsa TP, Kuttan G (2011) Protective role of *Ipomoea obscura* (L.) on cyclophosphamideinduced uro- and nephrotoxicities by modulating antioxidant status and pro-inflammatory cytokine levels. *Inflammopharmacol*, 19: 155-167.
- Harris H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta* 1990; 186: 133-50.
- Hassimotto NMA, Pinto MDS and Lajolo FM. Antioxidant status in humans after consumption of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) juices with and without defatted milk. *J Agric Food Chem* 2008; 56:11727–33.
- Hassun HM. Oxygen toxicity and mutagenesis in prokaryotes. In : Cohen G. Greenwold RA., eds. *Oxy Radicals and Their Scavenger System*. Vol. 1.: New York, Elsevier Biomedical, 1983 ; 198 - 206.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Healey CJ, Chapman RW, Fleming KA. Liver histology in hepatitis C infection: a comparison between patients with persistently normal or abnormal transaminases. *Gut*. 1995;37(2):274-8. Epub 1995/08/01.
- Henry, J.B., 2001, *Clinical Diagnosis and Management By Laboratory Methods*, W.B. Saunders Company, 20th ed.
- Hermes-Lima, M., Storey, J.M., and Storey, K.B., 2001. Antioxidant Defenses and Animal Adaptation to Oxygen Availability During Environmental Stress. In: Storey K.B., Storey J.M. (Eds), *Cell and Molecular Responses to Stress*, Elsevier Press, Amsterdam, pp. 263-287.
- Jablonska E., Gromadzinska J., Reszka E. et al. (2009) Association between GPx1 Pro198Leu polymorphism, GPx1 activity and plasma selenium concentration in humans. *Eur. J. Nutr.* 48, 383–386.
- Jain, S. K. (2006) Oxidative stress and metabolic diseases: Introduction. *Pathophysiology*. 13(3):127-128.
- Jamba L, Nehru B, Bansal MP. Effect of selenium supplementation on the influence of cadmium on glutathione and glutathione peroxidase system in mouse liver. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 2000; 13: 299-304.
- Jemal A, Clegg LX, Ward E, Ries LA, Wu X, Jamison PM. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2001, with a special feature regarding survival. *Cancer* 2004; 101(1):3-27.
- Jialal I, Grundy SM: Effect of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation. *Circulation*. 88: 2780-2786, 1993.
- Johnston DE. Special considerations in interpreting liver function tests. *American family physician*. 1999;59(8):2223-30. Epub 1999/04/30.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Kapoor VK, Dureja, Chadha R. Herbals in the control of ageing. *Drug Discov Today* 2009; 14(19–20): 992–8.
- Kaur, R., and Sandhu, H.S., 2008. In vivo Changes in Antioxidant System and Protective role of Selenium in Chlorpyrifos-Induced Subchronic Toxicity in *Bubalus bubalus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 26: 45-48.
- Kawabata TT, Chapman MY, Kim DH, Stevens WD, Holsapple, MP (1990) Mechanism of in vitro Immunosuppression by Hepatocyte Generated Cyclophosphamide Metabolites and 4-Hydroxycyclophosphamide. *Biochemical Pharmacology*, 40 (5): 927- 935.
- Kehrig, H.A., Seixas, T.G., Palermo, E.A., Baeta, A.P., Castelobranco, C.W., MALM, O., and Moreira, I., 2009. The Relationship Between Mercury and Selenium in Plankton and Fish From a Tropical Food Web. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16: 10-24.
- Kinekt, P., Marniemi, J., Teppo, L. (1998). Is low selenium status a risk factor for lung cancer? *Am J Epidemiol* 148; 975-982.
- Kieliszek M, Błażejak S, Jędrzejczak R. The capacity for binding selenium by fodder yeast strain *Candida utilis* ATCC 9950. *Bromat Chem Toksykol* 2012;45:628–33.
- Kim, Y.Y., Mahan DC. Biological aspects of selenium in farm animals. *Asian Aust. J Anim Sci* 2003;16:435–44.
- Kintzel PE. Anticancer drug-induced kidney disorders. Incidence, prevention and management. *Drug Safety* 2001; 24:19-38.
- Klaverkamp, J.F., Macdonald, W.A., Lillie, W.R., and Lutz, A., 1983. Joint Toxicity of Mercury and Selenium in Salmonid Eggs. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 12: 415-419.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Korenovska M. Determination of arsenic, antimony, and selenium by FIHG-AAS in foods consumed in Slovakia. *J Food Nutr Res* 2006;45:84-8.

Korkmaz A, Oter S, Sadir S, Coskun O, Topal T, Ozler M, Bilgic H (2005) Peroxynitrite may be involved in bladder damage caused by cyclophosphamide in rats. *J Urol.*, 173: 1793-1796.

Korkmaz A, Topal T, Oter S (2007) Pathophysiological aspects of cyclophosphamide and ifosfamide induced hemorrhagic cystitis; implication of reactive oxygen and nitrogen species as well as PARP activation. *Cell Biol. Toxicol.*, 23(5): 303-12.

Koyoma H, Wada T, Nishizawa Y, Iwanaga T (1977) Cyclophosphamide-Induced Ovarian Failure and its Therapeutic Significance in Patients with Breast Cancer. *Cancer*, 39: 1403-1409.

Köşkeroğlu İ.Ş. Oral Mukozada Oluşturulmuş Yumuşak Doku Defektinin İyileşmesi ve Oksidatif Stres Üzerine E Vitamini ve Selenyumun Etkisinin Deneysel Olarak Araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul: İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1998.

Kumar , K.B.H., Kuttan, R., (2004), Chemoprotective Activity of an Extract of *Phyllanthus Amarus* Against Cyclophosphamide Induced Toxicity in Mice, *Phytomedicine*, 12:494-500.

Kurkjian DC ve Ozer H. Management of advers effects of treatment. In:Devita VT, Hellman TS and Rosenberg's SA (Eds). *Cancer*, Philadelphia 2008, 8th edition, Chapter 63, p 2617-2638.

Kusano C, Ferrari B.Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *Haliç University J Cell Mol Biol* 2008; 7: (1) 1-15.

Kwon HC, Borch RF, Engel J, Niemeyer U (1987) Activation Mechanism of Mafosfamide and The Role of Thiols in Cyclophosphamide Metabolism. *J. Medchem.*, 30: 395-399.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Ladas, E. J., Jacobson, J. S., Kennedy, D. D., Teel, K., Fleischauer, A., Kelly, K. M., (2004), Antioxidants and cancer therapy: a systematic review, *Journal of Clinical Oncology*, 22(3), 517-528.

Lawler W, Ahmed A and Hume W.(Essential Pathology For Dental Students, 1987 ,pg :82-83).

Lee, D.H., R. Blomhoff and D.R.Jr. Jacobs, 2004, Is serum gamma glutamyltransferase a marker of oxidative stress? *Free Radic. Res.*, 38 (6):535-539, p.

Lin J. Q. (2002). Effect of nutrition intervention on antioxidant capacity and lipid peroxide in patients with bone marrow transplantation. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 22(6), 530-532.

Lott JA, Wolf PL. Alanine and aspartate aminotransferase (ALT and AST). *Clinical enzymology: a case-oriented approach*. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1986,111-138.

Lunec, J. and Blake, D., 1990. Oxygen Free Radicals: Their Relevance to Disease Processes. In: Cohen R.D., Lewis, B., Albert, K.G.M.M. *The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease*. Balliere Tindall, London, 189-212.

Lykkesfeldt J, Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet Journal* 2007; 173: 502-511.

Madi BC, Sandal J, Bannett R (1999) Effects of Female Relative in Labor. *Birth*, 26:9-10.

Maher, W., Roach, A., Doblin, M., Fan, T., Foster, S., Garrett, R., Moller, G., Oram, L., Wallschläger, D., 2010. Environmental sources, speciation, and partitioning of selenium. In: Chapman, P.M., et al. (Eds.), *Ecological Assessment of Selenium in the Aquatic Environment*. CRC Press, Boca Raton, pp. 47e92.

Marnett, L.J., 2000. Oxyradicals and DNA Damage. *Carcinogenesis*, 21, 361-370.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Masuda H, Chancellor MB, Kihara K and Yoshimura N: 15-deoxy- Delta 12,14-prostaglandin J2 attenuates development of cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *Urology* 2006; 67: 435.
- Mates, J.M., Perez-Gomez, C. and Nunez De Castro, I., 1999. Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clin. Biochem.*, 32, 595-603.
- Mates, J.M., 2000. Effects of Antioxidant Enzymes in the Molecular Control of Reactive Oxygen Species Toxicology. *Toxicology*, 153, 83-104.
- McEvoy GK, editor, Bethesda, Maryland: AHFS 2004 DrugInformation. American Society of Health-System. Pharmacists,2004: 929-952.
- Meister LA, Meadows AT. Late effects of childhood cancer therapy. *Curr Probl Pediatr* 1993; 23,102-131.
- Memisogullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I: Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem Func.* 21: 291-296, 2003.
- Meral, R., Doğan, İ.S., 2006. Buğdayda bulunan antioksidan maddeler. *Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongresi*,7-8 Eylül 2006, Gaziantep.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet. Fak. Derg.*, 15 (1-2), 91-96.
- Mercanlıgil, S.M. 2008. Karaciğer, safra kesesi ve pankreas hastalıklarında beslenme. *Diyet El Kitabı. Hatipoğlu Yayınları: 116, Yükseköğretim Dizisi: 36, 5. Baskı, s.179-213, Ankara.*
- Miller, L.L., Wang, F., Palace, V.P., and Hontela, A., 2007. Effects of Acute and Subchronic Exposure to Waterborne Selenite on the Physiological StressResponse and Oxidative Stress Indicators in Juvenile Rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 83: 263-271.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Mills, G.C., 1957. Hemoglobin Catabolism. I. Glutathione Peoxidase, an Erythrocyte Enzyme which Protects Hemoglobin from Oxidative Breakdown. J. Biol. Chem., 229,189.
- Morgan GE, Mikhail Jr MS, Michael JM. Clinical Anesthesiology 4 th ed. 2002; 708-722.
- Moslen MT (1994): Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phatogocytosis, Free Radicals in Diagnostic Medicine, Ed. D Armstrong, 1–15, Plenum Press, New York.
- Moure A, Cruz JM, Franco D, et al. Natural antioxidants from residual sources, Food Chem 2001; 72: 145-171.
- Mungan G. 1996. Kan bankalarında CPDA-1 (Citrate Phosphate Dextrose Adenine) ile saklanan kanlarda allopürinolün lipid peroksidasyonu ve biyokimyasal parametrelere etkisinin incelenmesi. Ankara Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya. Uzm. Tezi, 67s.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, R. A. and Rodwell, V. W. (1996). Harper'ın Biyokimyası (çev. N. Dikmen ve T. Özgünen), 162.
- Mushlin PS, Gelman S. Anesthesia and the liver. Clinical Anesthesia 4 th ed. Philadelphia: Williams, Wilkens, 2001; 1067-1101.
- Nathwani RA, Pais S, Reynolds TB, Kaplowitz N. Serum alanine aminotransferase in skeletal muscle diseases. Hepatology. 2005;41(2):380-2. Epub 2005/01/22.
- Navarro-Alarcon M, Lopez-Ga de la Serrana H, Perez-Valero V et al. Selenium concentrations in serum of individuals with liver diseases (cirrhosis or hepatit): relationship with some nutritional and biochemical markers. Sci Total Environ 2002 May 27; 291(1-3): 135-41.



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Navarro-Alarcon M., Lopez-Martinez M. C. (2000). Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *Sci Total Environ.*, 249: 347-371.
- Naziroğlu M, Karaoğlu A, Aksoy AO. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology* 2004; 195 (2-3): 221- 230.
- Ng VL, Balistreri W. (2004) Manifestations of liver diseases. *Nelson Textbook of Pediatrics*. (17th ed.). (Editors: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB), s.1308–14, W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- Nordberg, J. and Arner, E.S.J., 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biol. Med.*, 31, 1287–1312.
- Okada, F., 2002, Inflammation and free radicals in tumor development and progression, *Redox Rep.* 7:357-368, p.
- Orak, E., Yanardağ, R., Orak, H., 2000, Selenyum ve kalp hastalıkları ile ilişkisi, *Türk Kardiyol Dern Arđ*, 230-238 s.
- Özakyol AH: Nitrik oksit: Gastrointestinal sistem ve karaciğer. *Sendrom*, 11, 74-78, 1998.
- Özen H, Koçak N. (1998) Hipertransaminazemiye ve hepatomegaliye neden olan viral hepatit dışı nedenler. *Katkı Pediatri Dergisi*. 19(6):661–74.
- Özkan A, Fışkın K (2004) Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, 14:52-60.
- Pannen HJ. Hepatic blood flow during anesthesia and surgery. *ESA refresher courses Germany: 2000*.
- Parks DA, Skinner KA, Gelman S, Maze M. Hepatic physiology. *Anesthesia Miller RD* 5th ed., 2000; 647-661.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Pellegrini N, Miglio C, Del Rio D, et al. Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. *Int J Food Sci Nutr* 2009; 60 (Suppl 2): 12–22.
- Petermann R, Vogl S, Schulze E, Dargel R: Chronic liver injury alters basal and stimulated nitric oxide production and 3H-thymidine incorporation in cultured sinusoidal endothelial cells from rats. *J Hepatol*, 31, 284-292, 1999.
- Pool BL, Bos RP, Niemeyer U, Theuvs JLG, Schmahl D (1988) In vitro/ In vivo Effect of Mesna on the Genotoxicity and Toxicity of Cyclophosphamide A Study Aimed at Clarifying the Mechanism of Mesna' s Anticarsinogenic Activity. *Toxicology Letters*, 41: 49-56.
- Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of Abnormal Liver Enzyme Tests in the Asymptomatic Patient. *NEJM* 2000; 342: 1266-71.
- Putnam ME, Comben N. Vitamin E (review article). *Vet Rec* 1987; 5: 541-545.
- Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release* 2006;113: 189–207.
- Rayman, M.P., 2000a. The importance of selenium to human health. *Lancet*.356:233-41.
- Reifen R, Nissenkorn A, Matas Z, Bujanover Y. 5-ASA and lycopene decrease the oxidative stress and inflammation induced by iron in rats with colitis. *J Gastroenterol* 2004; 396: 514-19.
- Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. Vitamin E: protective role of a Janus molecule. *Faseb J* 2001; 15: 2314-2325.
- Saha B, Maity C. Alteration of serum enzymes in primary hypothyroidism. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2002;40(6):609-11. Epub 2002/09/05.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Schild L, Reinheckel T, Reiser M, Horn TFW, Wolf G, Augustin W: Nitric oxide produced in rat liver mitochondria causes oxidative stress and impairment of respiration after transient hypoxia. *FASEB J*, 17, 2194- 2201, 2003.
- Selimoğlu A. Koagülopati ve yüksek aminotransferaz düzeylerine yaklaşım. İçinde: Aydınoglu S, Arıkan Ç, editörler. Çocuk Hepatoloji Kurs Kitabı 2009;29-35.
- Senthilkumar, S., Yogeeta, S.K., Subashini, R., Devaki, T., 2006, Attenuation of Cyclophosphamide Induced Toxicity by Squalene in Experimental Rats, *Chemico-Biological Interactions*, 160:252-260, p.
- Shamberger RJ, Frost DV. Possible protective effect of selenium against human cancer. *Can Med Assoc J* 1969;100:682.
- Shanmugarajan, T.S., Arunsundar, M., Somasundaram, J., Sivaraman, D., Krishnakumar, E. And Ravichandran, V., 2008, Ameliorative Effect Of Ficus hispida Linn.Leaf Extract on Cyclophosphamide-Induced Oxidative Hepatic Injury in Rats, *Journal of Pharmacology and toxicology* 3(5):363-372,p.
- Shaunak, S., Munro, J.M., Weinberg, K., 1988, Cyclophosphamide induced liver necrosis: a Possible interaction with azathioprine. *Q. J. Med, New Series* 252:309-317, p.
- Silva CR, Gregg Antunes, LM, Bianchi ML. Antioxidant action of bixin against cisplatin-induced chromosome aberrations and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res* 2001; 43, 6: 561-566.
- Simone, C. B., Simone, N. L., Simone, V., Simone, C. B. (2007). Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 1. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 13(1), 22-28.
- Singh, U., Jialal, I., (2004). Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1031, 195-203.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Smith BP (1996). Large animal internal medicine: diseases of horses, cattle, sheep, and goats. 2nd ed. Mosby Year Book, Inc. 2040 pp.
- Sodergen, E. 2000. Lipid peroxidation in vivo. Uppsala University. Uppsala, 61s (yayınlanmamış).
- Sözmen EY: Yaşlanma Biyokimyası. In Onat T, Emerk K, Sözmen EY (Eds) İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara pp: 665-674. 2002.
- Stahl W, Berg H, Arthur J et al. Bioavailability and metabolism. Mol Aspects Med 2002; 23: 39–100.
- Stehbens W, Oxidative stress, toxic hepatitis and antioxidants with particular emphasis on zinc. Experimental and Molecular Pathology: 75, 265-276, 2003.
- Steinberg FM, Chait A: Antioxidant vitamin supplementation and lipid peroxidation in smokers. Am J Clin Nutr. 68: 319-327, 1998.
- Strensward J, Clark D. Palliative medicine-a global perspective. In: Doyle D, Hanks G, Cherny N, Camlan K, editors. Oxford textbook of palliative medicine. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press 2004; 1119-24. Study. Toxicology, 161:129-138 p.
- Su, L., Wang, M., Yin, S., Wang, H., Chen, L., Sun, L., Ruan, D., 2008. The Interaction of Selenium and Mercury in the Accumulation and Oxidative Stress of Rat Tissues. Ecotoxicology and Environmental Safety. 70: 483-489.
- Talas, Z.S., Orun, I., Ozdemir, I., Erdoğan, K., Alkan, A., and Yılmaz, I., 2008. Antioxidative Role of Selenium Against the Toxic Effect of Heavy Metals (Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>) on Liver of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). Fish Physiol. Biochem. 34: 217- 222.
- Tarantino G. From bed to bench: which attitude towards the laboratory liver tests should health care practitioners strike? World journal of gastroenterology : WJG. 2007; 13(37):4917-23. Epub 2007/09/15.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Taysi S, Gul M, Sari RA, Akcay F, Bakan N: Oxidant/antioxidant status in serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Chem Lab Med.* 40: 684–688, 2002.
- Taysi, S., Polat, F., Gul, M., Sari, RA., Bakan, E: Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology International.* 21 (5): 200–204, 2002.
- Thatcher N, Smith DB, Lind MJ, Anderson H, Barclay J, Chopra MP, Fitzgerald MD (1988) Double Alkylating Agent Therapy with Ifosfamide and Cyclophosphamide for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer from the Manchester Lung Tumour Group. *Cancer*, 61: 14-18.
- Todorova V, Vanderpool D, Blossom S, et al (2009). Oral glutamine protects against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in experimental rats through increase of cardiac glutathione. *Nutrition*, 25, 812-7.
- Tokoyuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathology International* 1999; 49: 91–102.
- Tos´luty, S., Obuchowska-Przebđrowska, Latuszynska, J., Musđk, I., Tokarska-Rodak., 2003. Comparison of Histological and ultrastructural changes in mice organs after supplementation with inorganic and organic selenium. *Ann Agric Environ Med.*, 10:87-91.
- Tousoulis D, Zisimos K, Antoniadis C, et al. Oxidative stress and inflammatory process in patients with atrial fibrillation: The role of left atrium distension. *Int J Cardiol* 2009; 136: 258–62.
- Tran, D., Moody, A.J., Fisher, A.S., Foulkes, M.E., and JHA, A.N., 2007. Protective Effects of Selenium on Mercury-Induced DNA Damage in Mussel Haemocytes. *Aquatic Toxicology*, 84: 11-18.
- Ulrey DE. Vitamine E for swine. *J Anim Sci* 1981; 53(4): 1039-1055.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Ursel, A., 2001. Natural care – Vitamins & Minerals Handbook, ISBN 80-89179-01- 0, Dorling Kindersley, London.
- Urso, M.L. and Clarkson, P.M., 2003. Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementation. *Toxicology*, 189, 41–54.
- Uzun, H., Şimşek, G., Aydın, S., Ünal, E., Karter, Y., Yelman, N.K., Vehid, S., Curgunlu, A., Kaya, S., 2005, Potential Effects of L-NAME on Alcohol-Induced Oxidative Stress, *World J Gastroenterol*;11,4:600-604, p.
- Valavanıdı, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. and Scoullou, M., 2006. Molecular Biomarkers of Oxidative Stress in Aquatic Organisms in Relation to Toxic Environmental Pollutants, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 64, 178–179.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem-Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
- Van Haaften RI, Evelo CT, Penders J, Eijnwachter MP, Haenen GR, Bast A: Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha-tocopherol derivatives. *Biochim Biophys Acta*. 1548: 23-28, 2001.
- Vernie L. N. Selenium in carcinogenesis. (1984). *Biochim Biophys Acta.*, 738: 203-217.
- Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL: Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*. 25: 612–628, 2004.
- Virag L, Szabo E, Gergely P, Szabo C, Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention, *Toxicol Lett* 2003 11;140-141:113-24.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Wasser S, Lim GY, Ong CN et al. Anti-oxidant ebselen causes the resolution of experimentally induced hepatic fibrosis in rats. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001 Nov; 16(11): 1244-53.
- Wetherilt H. Isırgan Otu Yaprak ve Tohumlarının Besleyici Özellikleri ve Antitümoral Etkileri. Doktora Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1989.
- Whanger, P.D. (2004). Selenium and Its Relationship to Cancer: An Update. *Br J Nutr*; 91: 11-28.
- Winston, G.W., 1991. Oxidants and Antioxidants in Aquatic Animals. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100C, 173–176.
- Wildburger, R., Mrakovic, L., Stroser, M., Andrisic, L., Borovic Sunjic, S., Zarkovic, K., Zarkovic, N. (2009). Lipid peroxidation and age-associated diseases-cause or consequence?: Review Citation. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 29(1), 189-193.
- Willcox, J.K., Ash, S.L., Catiganani, G.L., 2004, Antioxidants and prevention of chronic Disease, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 44:275-295, p.
- Winkel, L.H.E., Johnson, C.A., Lenz, M., Grundl, T., Leupin, O.X., Amini, M., Charlet, L., 2012. Environmental selenium research: from microscopic processes to global understanding. *Environmental Science and Technology* 46, 571e657.
- Wu, D. and Cederbaum, A.I., 2003. Alcohol, Oksidative Stres and Free Radical Damage. *Alcohol Res. Health.*, 27(4), 277–284.
- Yanbeyi S. 1999. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 88s.

### **KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

Young I. S., Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54, 176-186.

Yurdakök M, Qaglar M, Yurdakök K. Sıçanlarda vitamin E ve selenyumun karbon tetraklorür hepatotoksitesine karşı etkileri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 1985; 18: 10-17.

Zhu H., Jia Z., Misra H., Li Y.R. (2012) Oxidative stress and redox signaling mechanisms of alcoholic liver disease: updated experimental and clinical evidence. *J. Dig. Dis.* 13, 133–142.

Zwolak I. & Zaporowska H. (2012) Selenium interactions and toxicity: a review. *Selenium interactions and toxicity. Cell Biol. Toxicol.* 28, 31–46.