



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SİKLOFOSFAMİD NEDENLİ DOKU HASARI VE
OKSİDATİF STRES ÜZERİNE SELENYUMUN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİBEL GÜNEŞ

**DANIŞMAN
PROF. DR. RUHİ UYAR**

Proje No: 2014-254

KABUL VE ONAY SAYFASI

SİBEL GÜNEŞ' in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "**Siklofosamid Nedenli Doku Hasarı ve Oksidatif Stres Üzerine Selenyumun Etkisi**" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

Tarih

14 Temmuz 2015

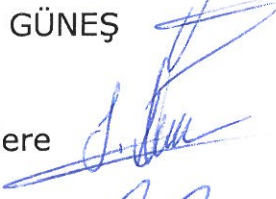
Üye: Prof. Dr. Ruhi Uyar



Üye: Prof. Dr. Ziya Kaygısız



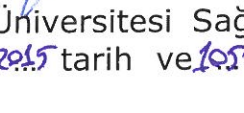
Üye: Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ



Üye: Prof. Dr. Selda Kabadere



Üye: Yrd. Doç. Dr. Gökhan KUS



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 21 / 07 / 2015 tarih ve 1055 / 4935 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

Özet

Siklofosfamid (cyclophosphamide = CP), akrolein ve fosforamid mustard gibi reaktif metabolitleri toksisiteye neden olan antikanser bir ilaçtır. CP'nin bazı zararlı etkileri oksidatif stresi uyarmasıyla ilişkilidir. Antioksidan (AO) kapasitenin azalması durumunda, reaktif oksijen türleri sağlıklı ve neoplastik hücrelerin bileşenlerini değiştirebilir. Bu durum böbreklerin de dahil olduğu çoklu organ toksisitesine neden olur. Selenyum (Se)'un, glutatyon peroksidaz, deiyodinaz, tiyoredoksin reduktaz ve selenoprotein P gibi insanları oksidatif hasardan koruyan enzimlerin metabolik süreçlerinde rol oynadığı bilinmektedir. Çalışmamızda CP nedenli oksidatif stres ve böbrek hasarında selenyumun olası koruyucu etkisi araştırılmıştır.

Sprague-Dawley cinsi 42 adet erkek sıçan her grupta 7 tane olacak şekilde 6 gruba (kontrol, 150 mg/kg CP, 0.5 ve 1 mg/kg Se, 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se) bölündü. Se'un böbrekte koruyuculuk derecesini belirlemek için serum malondialdehid (MDA), glutatyon (GSH), süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (KAT), toplam AO seviye (TAS), toplam oksidan seviye (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ) ile kreatinin ve sistatin C aktiviteleri ölçüldü. Dokular histolojik olarak da incelendi.

CP uygulanan grupta serum MDA, sistatin C, kreatinin, TOS ve OSİ düzeyleri artarken GSH, SOD, KAT ve TAS düzeylerinin azaldığı görüldü. CP ile birlikte selenyum uygulanan gruplarda ise MDA, sistatin C, kreatinin, TOS ve OSİ düzeyleri azalırken AO düzeyleri artmış bulundu. CP uygulanan deney grubunda böbrek dokusunda küçük kanama ve iltihabi hücre odakları, kan damarlarında konjesyon gözlemlendi. Üstelik Bowman kapsül aralıklarında daralma, glomerüllerde kompaktlaşma, tübüllerde hiyalin materyal birikimi ve tübül epitelinde yer yer ayrılmalar saptandı. CP ile birlikte uygulanan Se dozlarının her ikisinde de böbrek histolojisindeki bozuklukların azaldığı görüldü.

Sonuçlarımıza göre, CP lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresi artırarak böbreklerde hasarlara neden olmuştur. Se'un her iki dozu da CP nedenli bu hasarları azaltmıştır. Ancak 1 mg/kg Se'un 0.5 mg/kg Se'a göre CP kaynaklı hasarları daha göze çarpan şekilde düzelttiği görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Siklofosfamid, Oksidatif stres, Nefrotoksisite, Selenyum, Antioksidan, Rat

Summary

Cyclophosphamide (CP) is a commonly used anti-cancer drug that causes toxicity by its reactive metabolites such as acrolein and phosphoramidate mustard. Its adverse effects are partly connected to the induction of oxidative stress. Reactive oxygen species can modify the components of both healthy and neoplastic cells in circumstances of decreased antioxidative abilities that leads to the multiple organ toxicity, including the kidneys. Selenium (Se) is an essential trace element for the body. This trace element known for its antioxidant function is the cofactor of many enzymes. Se plays a role in many metabolic processes involving the enzymes glutathion peroxidases, deiodinases, thioredoxin reductases, and selenoprotein P that protect the organism from oxidative damages in humans. In this study, Se was evaluated for its antioxidant and tissue protection efficacy against the CP-induced kidney tissues oxidative stress in rats.

Forty-two Sprague-Dawley rats were equally divided into six groups (control, 150 mg/kg CP, 0.5 mg/kg Se, 1mg/kg Se, 150+0.5 mg/kg CP+Se and 150+1 mg/kg CP+Se) each consisting of seven rats. All injections were intraperitoneal (i.p.). In order to evaluate the degree of protectiveness of Se malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), catalase (KAT), total antioxidant status (TAS), total oxidant state (TOS), oxidative stress index (OSI), creatinine and cystatine C levels measured in the serum. Also kidney tissues were examined histologically.

In the group treated with only cyclophosphamide serum MDA, cystatin C, creatinine, TOS and OSI levels increased, while GSH, SOD, CAT and TAS levels decreased. Minor bleeding, inflammation, congestion and narrowing of kidneys were observed in the CP administered group. Also narrowing of the range of Bowman's capsule, compacted glomeruli, accumulation of hyaline material in matrix and cleavage in the tubules were detected. Both doses of selenium administered together with cyclophosphamide decreased the renal tissue disorders.

Based on our results; CP caused lipid peroxidation and damages to the kidneys by increasing oxidative stress, but both doses of selenium decreased these CP induced kidney damages. However, 1mg/kg Se was more effective than 0.5 mg/kg Se in terms of reducing CP induced destructions.

Key words: Cyclophosphamide, Oxidative stress, Nephrotoxicity, Selenium, Antioxidant, Rat

İçindekiler

Kabul ve Onay Sayfası	ii
Özet	iii
Summary	iv
İçindekiler	v
Tablo Dizini	vii
Şekil Dizini	viii
Simge ve Kısaltmalar Dizini	ix
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Siklofosfamid	3
2.1.1. Siklofosfamid ve böbrek hasarı	6
2.2. Selenyumun Genel Özellikleri	7
2.2.1. Selenyum kaynakları	8
2.2.2. Selenyumun bedende emilimi	8
2.2.3. Selenyumun bedende depolanması	9
2.2.4. Selenyumun bedenden uzaklaştırılması	9
2.2.5. Selenyumun fizyolojik görevleri	9
2.2.6. Bedende selenyum eksikliği	9
2.2.7. Selenyum ve kanser	10
2.2.8. Selenyum toksisitesi	11
2.3. Serbest Oksijen Radikalleri	11
2.3.1. Serbest oksijen radikalleri ve oksidatif stres	12
2.3.2. Oksidatif stres kaynaklı böbrek hasarı	13
2.4. Antioksidanlar	13
2.4.1. Enzimatik antioksidanlar	14
2.4.1.1. Redükte glutatyon	14
2.4.1.2. Glutatyon peroksidaz	15
2.4.1.3. Glutatyon redüktaz	16
2.4.1.4. Süperoksit dismutaz	16
2.4.1.5. Katalaz	17
2.5. Toplam Antioksidan Seviye ve Oksidatif Stres İndeksi	17
3. Gereç ve Yöntem	19
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	20
3.3. Yöntemlerin Uygulanması	20
3.3.1. Deney hayvanlarının hazırlanması	20
3.3.2. Deney grupları	21
3.3.3. Kimyasal maddeler ve enjeksiyonları	21
3.3.4. Anestezi ve cerrahi uygulamalar	22
3.3.5. Malondialdehid seviyesinin belirlenmesi	22
3.3.6. Glutatyon seviyesinin belirlenmesi	22
3.3.7. Süperoksit dismutaz seviyesinin belirlenmesi	22

3.3.8. Katalaz seviyesinin belirlenmesi	22
3.3.9. Toplam oksidan ve toplam antioksidan seviyelerinin belirlenmesi	23
3.3.10. Oksidatif stres indeksinin ölçümü	23
3.3.11. Kreatinin seviyesinin belirlenmesi	23
3.3.12. Sistatin C seviyesinin ölçümü	23
3.4. Histolojik Çalışmalar	24
3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler	24
4. Bulgular.....	25
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	25
4.2. Histolojik Bulgular	32
5- Tartışma	35
6- Sonuç ve Öneriler.....	40
Kaynaklar	41

Tablo Dizini

- Tablo 3.1. :Uygulanan siklofosfamid (CP) ve selenyumun (Se) gruplara göre dağılımı
- Tablo 4.1. :Deney gruplarının MDA, GSH, SOD ve KAT değerleri
- Tablo 4.2. :Deney gruplarının kreatinin ve sistatin C ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması
- Tablo 4.3. :Deney gruplarının TAS, TOS ve OSİ ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Şekil Dizini

- Şekil 2.1. : Siklofosfamid; 2-bis (kloroetil) amino tetrahidro-2H-1,2,3-oksazofosforin 2 oksit
- Şekil 2.2. : Siklofosfamid metabolizması
- Şekil 2.3. : Siklofosfamidin böbrek hasarı mekanizması
- Şekil 2.4. : Redükte glutatyonun yapısı
- Şekil 2.5. : Glutatyon redoks döngüsü
- Şekil 4.1. : Deney gruplarının malondialdehid seviyeleri
- Şekil 4.2. : Deney gruplarının glutatyon seviyeleri
- Şekil 4.3. : Deney gruplarının süperoksid dismutaz seviyeleri
- Şekil 4.4. : Deney gruplarının katalaz seviyeleri
- Şekil 4.5. : Deney gruplarının kreatinin seviyeleri
- Şekil 4.6. : Deney gruplarının sistatin C seviyeleri
- Şekil 4.7. : Deney gruplarının TAS değerleri
- Şekil 4.8. : Deney gruplarının TOS değerleri
- Şekil 4.9. : Deney gruplarının OSİ değerleri

Simge ve Kısaltmalar Dizini

AO	: Antioksidan
ACR	: Akrolein
CP	: Siklofosfamid
eNOS	: Endotel kökenli NOS
GSH	: Glutasyon peroksidaz
iNOS	: İndüklenebilir NOS
KAT	: Katalaz
MDA	: Malondialdehid
nNOS	: Nöronal NOS
NO	: Nitrik oksit
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PAM	: Fosfamid mustard
ROS	: Reaktif oksijen türleri
Se	: Selenyum
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TAS	: Toplam antioksidan seviye
TOS	: Toplam oksidan seviye

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sitotoksik ilaçlar kanser tedavisinde yıllardır kullanılmaktadır, ancak sağlıklı hücrelerin hasarlanmasıyla sonuçlanan birçok mekanizma henüz açıklanamamıştır. Antikanser ilaçların metabolizması boyunca üretilen sitotoksik metabolitler ve reaktif oksijen türlerinin bu hasarlanma mekanizmalarına katıldığı düşünülmektedir (Reed vd.,1987; Song vd., 2014).

Siklofosfamid (cyclophosphamide=CP) kanser ve malin olmayan hastalıkların tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmış geniş klinik kullanımlı alkilleyici sitotoksik bir ilaçtır (Fraiser vd., 1991; Perini vd., 2007; Kennedy vd., 2010). Siklofosfamidin antitümoral etkinliği, yüksek dozda kullanılabilmesine bağlıdır. Siklofosfamidin en önemli sınırlayıcı etkisi sağlıklı dokuları hasarlanması nedeniyle gelişen çoklu organ toksisitesidir. Bu doz sınırlayıcı toksisiteler hemotoksisite, ürotoksisite ve nefrotoksisitedir (Ayhanci vd., 2009; Abraham, Isaac, 2011; Sakthivel, Guruvayoorappan, 2014). CP karaciğerde hidrosillenerek metabolitleri olan fosforamid mustard (phosphoramid mustard = PAM) ve akrolein (acrolein = ACR) dönüşür. Siklofosfamidin toksik etkisi aktif metaboliti olan ACR ile ilgilidir. Akrolein doku antioksidan (AO) savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda reaktif oksijen türevleri (reactive oxygen species = ROS) oluşumuna yol açar ve memeli hücreleri için mutajeniktir. Akrolein idrarda yüksek oranlara ulaşarak mesane epiteli ve böbrek tübüllerinde toksik bir maddeye dönüşür ve CP'nin klinik kullanımını sınırlar (Kawabata vd., 1990; Masuda vd., 2006).

Evrimsel süreç içinde, reaktif oksijen türlerini etkisiz hale getirmek için antioksidan savunma sistemi olarak tanımlanan koruyucu bir sistem gelişmiştir (Halliwell, Gutteridge, 1990). Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içindedir ve bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Toplam antioksidan seviyenin (TAS) ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Bu yüzden kanın antioksidatif durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam değerini veren TAS ölçümü yaygınlaşmaktadır. Hücrelerin normal işlevleri sırasında açığa çıkan ve bu hücrelerin doğal antioksidan sistemleriyle yok edilen reaktif oksijen türleri, bedende oksidatif bir denge halindedirler. Bu oksidatif denge sağlandığı sürece organizma bu bileşiklerin zararlı etkilerinden korunmuş olur (Erel, 2005).

Böbreğin işlevlerini değerlendirmek için genellikle serum kreatinin düzeyleri kontrol edilir. Kreatinin, kaslar tarafından üretilir ve böbrekler tarafından süzülür. Ancak, hafif düzeyde böbrek bozukluklarını saptamak için kreatinin testleri yetersizdir ve kişilerin kas kütlelerine ve protein alımlarına göre sonuçlar değişebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, kreatinin ve sistatin C testlerinin birlikte uygulanması böbrek işlevlerini

belirlemede daha etkili bir yol olarak düşünölmektedir (Carmen vd., 2011; Abraham, Isaac, 2011).

Siklofosfamidin nefrotoksisitesi proksimal tñböl hasarı ve önemli oranda boşaltım azalmasıyla kendisini gösterir (Abraham, 2011). Böbrekte, proksimal tñböl hücreleri ROS ve oksidatif stresten oldukça çok etkilenirler. Siklofosfamidin toksik yan etkilerinden kaçınmak için bazı AO ajanların kullanılması ve özellikle ACR nedenli oluşan ROS'ların etkisiz hale getirilmesi gerekir. Amifostin, sodyum tiyosülfat, mesna ve procainamid gibi hücre koruyucu ajanlar platinüm ve alkilleyici ajanların oluşturduğu toksisitelere karşı etkilerinin yetersizliği veya tümör dokusuna karşı seçici olmamaları nedeniyle geniş klinik kullanımlar için önerilmemektedirler (Shaw, Blekley, 2000; Fouladi vd., 2011). Bu yüzden normal dokuları kemoterapi nedenli toksisitelerden korumak ve tümör oluşumunu ve uyarımını engellemek için yeni koruyucu ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Selenyum (Se), beden için hayati bir eser elementtir. Antioksidan özellikleri olduğu bilinen bu eser element birçok enzimin kofaktörüdür. Selenyum, çok çeşitli biyolojik işlevlerde örneğin; p53, transkripsiyon faktörü, aktivatör protein P, nüklear faktör B, siklooksijenaz 2, proteinkinaz A ve C, glutasyon peroksidaz aktivasyonu gibi birçok belirteçleri içeren olaylarda önemli rol oynar. Se bileşiklerinin yoğun bir şekilde kimyasal önleyici ajanlar olarak değerlendirilmesine rağmen, bu ajanın potansiyeli ile ilgili bazı yayınlarda antikanser ilaçların terapötik etkileri ve toksisitelerinin modifikasyonlarında etkili olduğu değerlendirilmektedir (Cao vd., 2004; Al-Gubory vd., 2010).

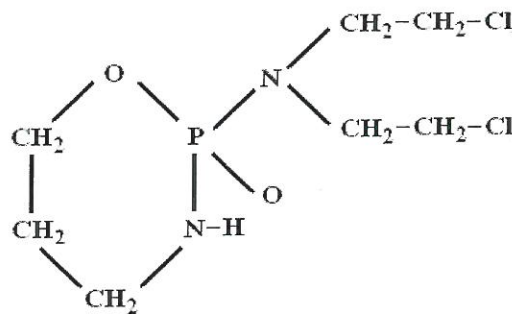
Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulmuş CP nedenli böbrek toksisitesine karşı, hücre ve doku koruyucu özellikleri olduğu bilinen selenyumun olası etkilerinin biyokimyasal ölçümler (malondialdehid, glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz, kreatinin, sistatin C, toplam antioksidan seviye, toplam oksidan seviye, oksidatif stres indeksi) ve histolojik incelemelerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Siklofosfamid

Birinci Dünya Savaşı sırasında zehirli gaz olarak kullanılan kükürtlü hardal (sülfür mustard, dikloroetilsülfür) maddesinin insanlarda lenfoid doku ve kemik iliğinde atrofi yaptığının saptanması, daha sonraki yıllarda azotlu hardal (nitrojen mustard) bileşiklerinin hem kimyasal savaş aracı olarak geliştirilmesine hem de deney hayvanlarındaki tümörlerde denenmesine yol açtı. Bu incelemeler sonunda 1948'de azotlu hardal olan mekloreタミン adlı alkilleyici bir ilaç klinikte kullanılmaya başlanmış ve böylece modern kanser kemoterapisi çağı açılmıştır. Alkilleyici ilaçlar kanser tedavisinde çok uzun bir süreden beri kullanılan ve en sık başvuru tipte ilaçlardır (Kayaalp, 1998; Ray vd., 2010).

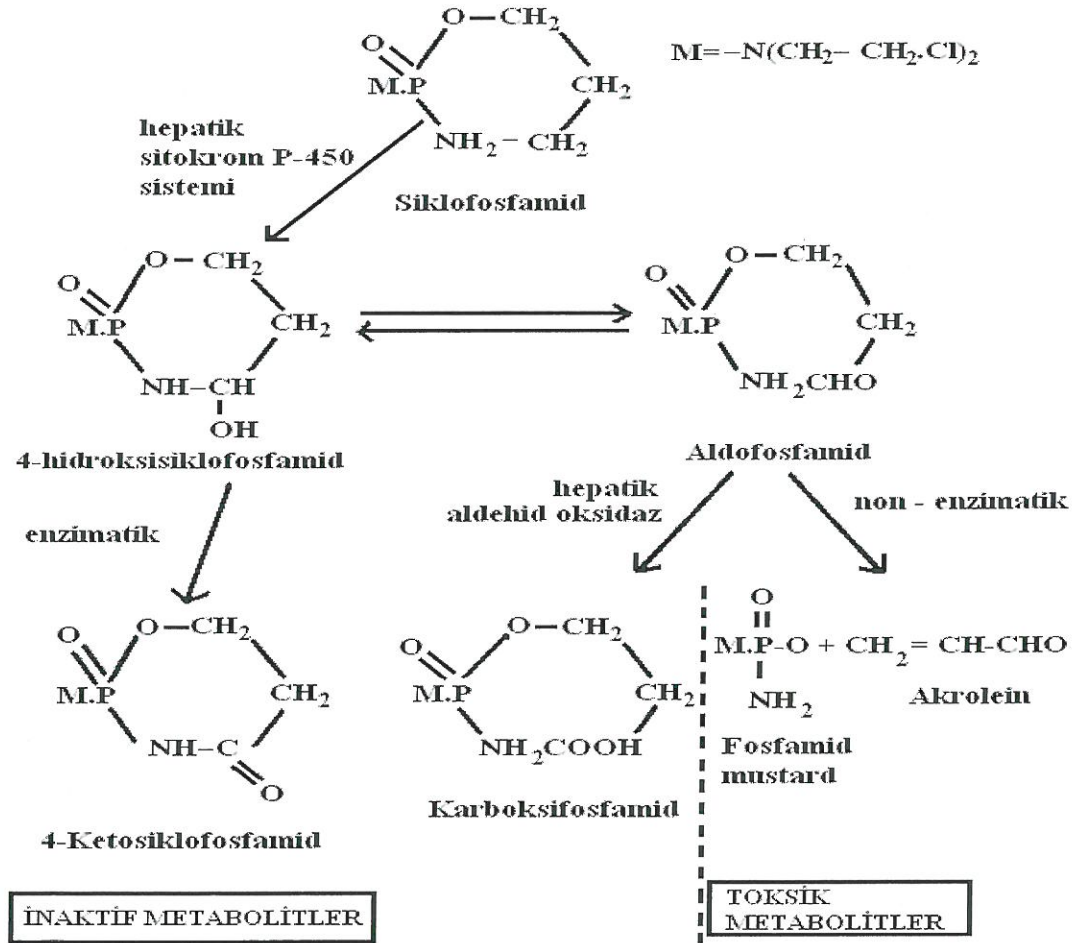
Alkilleyici ilaçlar ve ilgili bileşikleri, hücredeki özel nükleofilik maddelere bağlanabilen kimyasal grupları içerir. Alkilleyici ajanlarda ana adım bir karbonyumun oluşmasıdır. Böylece iyonlar çok reaktif olan amin, hidroksil veya sülfidril gibi bir elektron vericiyle hemen reaksiyona girerler. Çoğu sitotoksik antikanser ilaç iki adet alkilleyici gruba sahiptir. Tüm alkilleyici ajanlar kemik iliği işlevlerini baskırlar. En çok kullanılan alkilleyici ajan siklofosfamiddir. Siklofosfamid nitrojen mustard tipi alkilleyici antineoplastik bir ilaçtır. Tek başına veya diğer kemoterapötik ilaçlarla birlikte birçok neoplastik ve neoplastik olmayan hastalığın tedavisinde kullanılır (Kayaalp, 1998). Siklofosfamidin kimyasal yapısı şekil 2.1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Siklofosfamid; 2-bis (kloroetil) amino tetrahidro-2H-1,2,3-oksazofosforin 2 oksit (Gilman vd., 1985).

Siklofosfamid karaciğerde aktif metaboliti olan fosforamid mustarda (phosphoramid mustard = PAM) dönüşerek etkinlik kazanır (Hamsa, Kuttan, 2011; Rang vd., 2012). Siklofosfamidin kanserostatik aktivitesi

PAM oluşumunu veren hepatic mikrozomal karma fonksiyon oksidaz sistemi ile metabolizmasına bağlıdır (Bernacki vd., 1987). P-450 monooksijenaz sisteminin etkisi altında siklofosamid, 4-hidroksi siklofosamide metabolize olur. Bu metabolit, enzimatik olmayan bir yolla aldofosamide yeniden düzenlenir. Bu da PAM ve akroleine (acrolein = ACR) ayrılır (Şekil 2.2). PAM'ın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, siklofosamidin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu düşünülmektedir. Diğer taraftan ACR'nin önemli makro moleküllerin sülfidril gruplarıyla çabucak reaksiyona girdiği böylece bağışıklığı baskıladığı düşünülmektedir (Kwon vd., 1987; Pool vd., 1988; Kawabata vd., 1990).



Şekil 2.2. Siklofosamid metabolizması (Gilman vd., 1985).

Akrolein böbrek epitelini geçerek ve bazı reaktif oksijen türlerini uyararak etkisini gösterdiği gibi nitrik oksit sentaz (NOS) üzerinden nitrik oksit (NO) düzeylerini artırarak da gösterir (Korkmaz vd., 2007). Nitrik oksit birçok önemli fizyolojik ve fizyopatolojik süreci düzenleyen serbest oksijen radikali öncülü bir üründür. L-argininden NOS yoluyla sentez edilmektedir ve NOS'un 3 tipi vardır. Endotel kökenli NOS (eNOS) fibroblastlardan da üretilir ve ana olarak vazodilatasyondan sorumludur.

Sinir sisteminde üretilen nöronal NOS (nNOS) sinirsel sinyalizasyonda görev alan bir enzimdir. İndüklenebilir NOS (iNOS), lökosit ve makrofajlarda üretilir. Patolojik durumlarda iNOS aktivasyonu ile üretilen nitrik oksit eNOS aktivasyonu ile üretilenden çok daha fazladır (Szabo, 1996). Hemorajik sistit durumunda iNOS üreten immünoreaktif hücrelerin sayısı artmaktadır. Ayrıca ACR'nin tetiklediği mekanizmalar sonucunda interlokin- α , TNF- β , trombosit aktive edici faktör, siklooksijenaz-2 ve güçlü bir oksidan olan peroksinitrit seviyeleri artmaktadır (Korkmaz vd., 2005).

Hematolojik ve solid tümörlerin tedavisinde başarılı bulunan siklofosfamid, hem ağızdan hem de enjeksiyon yoluyla alınabilir. Siklofosfamidin plazmadaki yarılanma ömrü 6,5 saattir. Enjeksiyon yoluyla verildiğinde aktif metabolitlerin plazmada en yüksek değere ulaşması 2-3 saat sürer. Siklofosfamid; Hodgkin dışı lenfomalar (Glode vd., 1981), çocukların akut lenfositik lösemisi (Bokser vd., 1990), küçük hücreli olan veya olmayan akciğer kanseri (Thatcher vd., 1988) ve pediatrik solid tümörlerin (Bramwell vd., 1987) tedavisinde kullanılır. Bunun yanı sıra, güçlü bir bağışıklık baskılayıcı olduğundan romatoid artrit, çocukların nefrotik sendromu (Koyoma vd., 1977), Behçet hastalığı (Ozyazgan vd., 1992) ve diğer bazı otoimmün hastalıklarda da kullanılmaktadır (Kayaalp, 1998).

Siklofosfamidin en sık görülen yan etkisi bulantı, kusma ve diğer sindirim sistemi bozuklukları ile kemik iliği baskılanmasıdır. Siklofosfamidin sınır dozunda gösterdiği toksisitenin kemik iliğini baskılayıcı toksisite olduğu ileri sürülmüştür (Thatcher vd., 1988; Ayhanci vd., 2009). Kemik iliği depresyonuna bağlı olarak lökopeni, trombositopeni ve bazı hastalıklarda alopesi gelişmektedir (Banham vd., 1985). Siklofosfamidin sıçanlarda alopesi yaptığı deneysel bir çalışmada gösterilmiştir (Hussein, 1995). Siklofosfamid özellikle daha önce kemoterapi görmüş hastalarda lökopeni yapmaktadır (Bramwell vd., 1987).

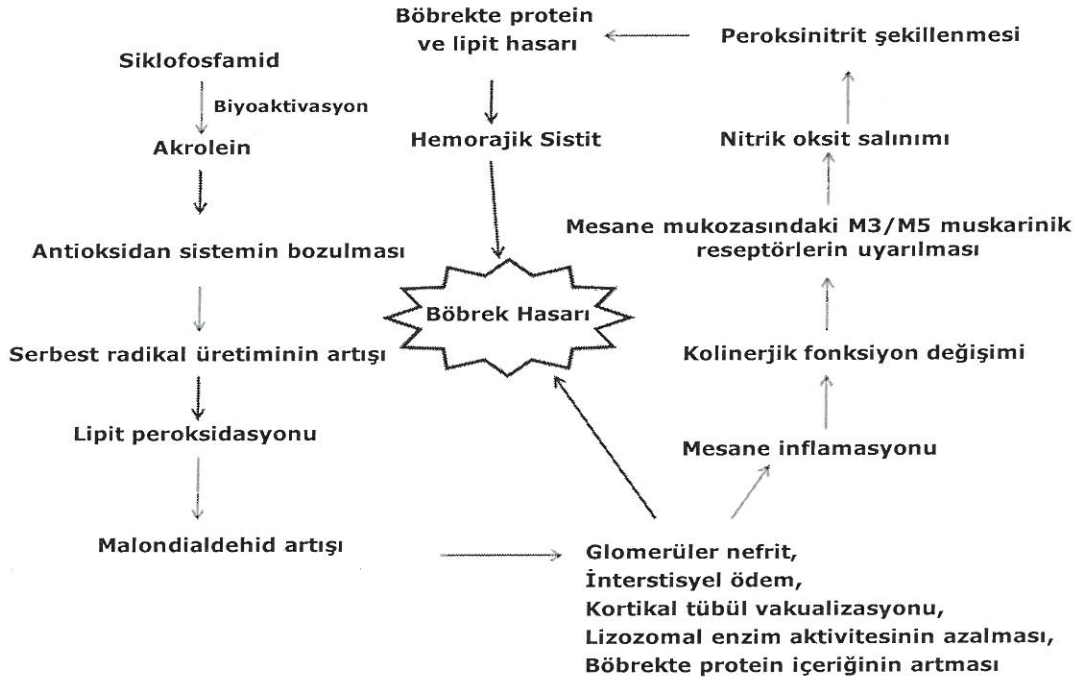
Siklofosfamidin en büyük potansiyel toksik etkisi hemorajik sistit olup bu doz kısıtlayıcı bir yan etkidir. Uzun süreli veya yüksek doz siklofosfamid tedavisinden sonra hastaların %40'ında hemorajik sistit geliştiği bildirilmiştir. Hemorajik sistit, siklofosfamidin aktif metaboliti olan ACR tarafından üriner epitelin hasar görmesi sonucu oluşur. Hemorajik sistit birkaç saat içinde gelişir ve tedaviyle bir iki hafta içinde düzelir (Miller vd., 1994).

Bu nitrojen mustard grubu sitostatik ilacın ürotoksisitesi sadece alkilleyici aktivitelerine bağlanmamıştır. Bununla beraber ürotoksisiteden siklofosfamidin hepatik mikrozomal enzimatik hidroksilasyon yoluyla üretilen 4-hidroksi metabolitlerinin ve özellikle de renal ACR salınımının sorumlu olduğu bilinmektedir. Ancak yine de ACR detoksifikasyonu

hemorajik sistit semptomlarını tamamen engellemez (Brock vd., 1982; West, 1997).

2.2. Siklofosfamid ve Böbrek Hasarı

Böbrek birçok kemoterapi ilacının atıldığı organdır. İlaçların metabolitleri de böbrekleri duyarlı hale getirebilmektedir. Genel olarak glomerül, tübül, damarlar semptomatik olmayan kreatinin yüksekliğinden ve diyaliz gerektiren akut böbrek yetmezliğine kadar uzanan düzeyde böbrek işlev bozukluğu oluşabilmektedir. Çeşitli potansiyel risk etkenleri arasında; nefrotoksik potansiyele sahip kemoterapi ilaçları, yaşlılık, ilave ilaç kullanımı (non-steroid anti-inflamatuvar kullanımı), hipertansiyon, diyabet ve kalp yetmezliği sayılmaktadır. İlacın nefrotoksisite nedenli mekanizmasının arkasında idrar sediment anomalileri, elektrolit dengesizlikleri ve çok yaygın bir şekilde azalan glomerüler filtrasyon hızı bulunmaktadır (De Jonge, 2006). Siklofosfamidin böbrekteki toksik etkileri Şekil 2.3'te özetlenmiştir.



Şekil 2.3. Siklofosfamidin böbrek hasarı mekanizması (Yousefipour vd., 2005).

Akrolein glutatyon ile bağlandıktan sonra hücresel hasara neden olur ve hücre içinde glutatyon düzeylerini azaltır (Ohno, Ormstad, 1985). ACR glutatyon bağımlı antioksidan sistemi bozar ve serbest oksijen radikallerinin üretimini artırır. Bu serbest radikaller damar içinde nitrik oksit/nitrik oksit sentaz (NO/NO sentaz) sisteminin bozulmasından dolayı artarlar (Yousefipour vd., 2005).

Siklofosfamid nedenli nefrotoksisitede túbüler işlev bozukluğuyla birlikte glomerüler filtrasyon hızında da çeşitli azalmalar görülür (Abraham, Rabi, 2009). Siklofosfamid uygulanmış fare böbreklerinde glomerüler nefrit, interstisyel ödem ve kortikal túbül hücrelerinde vakualizasyon görülür. Siklofosfamid uygulanan sıçanların böbreklerinde lizozomal enzim aktiviteleri azalır ve protein içeriği artar. Lizozomal enzim aktivitelerinin azalması renal hasara katkıda bulunur (Abraham, Indirani & Sugumar, 2007).

Lipid peroksidasyonu ACR üretiminden dolayı siklofosfamid nedenli toksisitelerin ana nedenlerinden biridir. Malondialdehid bir reaktif aldehid ve oksidatif stresin belirteçlerinden biri olup lipid peroksidasyonunun son ürünüdür (Kim vd., 2012). Siklofosfamidin toksisitesi 2 mekanizmanın toplam etkisiyle oluşur;

1. Nükleofillerin düzeylerinin azalması (örneğin akrolein ile glutatyonun etkileşimi),

2. Nitrik oksit ve oksijenin birleşerek hücrede lipid ve proteinlerin hasarlanmasına neden olan peroksinitriti oluşturması.

Makrofaj, nötrofil ve monositler inflamatuvar hücreler olup ROS üretirler. Bu ROS'lar yüksek reaktivitelerinden dolayı protein ve nükleik asitlerle etkileşerek doku hasarına neden olurlar (Abraham, Sugumar, 2008; Bhatia vd., 2008).

2.3. Selenyumun Genel Özellikleri

Hücreleri koruyan antioksidan mekanizmada kilit mineral olan selenyum (Se), 1817 yılında Berzelius tarafından İsveç'te keşfedilmiştir (Kim, Mahan 2003; Kieliszek vd., 2012). Selenyum, periyodik tabloda VI A alt grubunda yer alan bir elementtir ve aynı grupta yer alan sülfür ile kimyasal özellikleri büyük benzerlik gösterir. Selenyum; havada ve suda erimiş olarak, ayrıca toprak ve kayalarda katı halde bulunur. Buralardan bitkilere, mantarlara, bakterilere ve insanlara geçer, sonra tekrar doğaya döner (Büyükakyüz vd., 2000). Doğadaki ortalama yoğunluğu 0.09 ppm (parts per million = milyondaki partikül oranı) olarak bulunmuştur. Kandaki selenyum düzeyi 60-100 µg/L'dir. Başta karaciğer ve böbrek olmak üzere insanın tüm dokularında bulunmaktadır. Selenyumun, insan beslenmesi için gerekli olduğu, düşük selenyum yoğunluğuyla Keshan hastalığı arasındaki ilişkiyi keşfedinceye kadar bilinmiyordu. Yaygın olarak Çin gençlerinde görülen bu genç çocuk kardiyomyopati pek çok çocuğun ölümüne neden olmuş ve haftada 0.5-1 mg selenyum uygulanmasıyla tamamen tedavi edilmiştir (Combs, Gray; 1998).

Selenyum, biyolojik etkilerini, yapısında başlıca selenosistein aminoasidi bulunan selenoproteinler yoluyla gösterir. Allan vd., (1999) 30-

50 tür selenoprotein varlığını saptamışlardır. Selenoproteinlerin antioksidan özellikleri serbest radikaller tarafından oluşturulan hücresel zararı önlemeye yardımcı olur. Yapısında selenyum yer alan ve antioksidan savunma mekanizmasının önemli bir üyesi olan glutatyon peroksidaz bulunan ilk selenoproteindir. Selenyum, dokularda genellikle selenosistein ve selenometiyonin olmak üzere iki formda bulunur. Selenosistein; prokaryotik ve ökaryotik yaşamda, selenyumun yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarına katılan enzimlerin aktif bölümünü oluşturan biyolojik olarak etkin formudur. Selenometiyonin; beden içinde sentezlenemez ve beslenme yolu ile alınır. Selenometiyonin, selenyum elementini depolayan bir yapı olarak düşünülmektedir (Rayman, 2000; Tran vd., 2010).

2.3.1. Selenyum kaynakları

Selenyum, hayvan dokularında proteinle birleştikten et, et ürünleri ve balık en güvenilir kaynaklardır. Tahıl ve tohumlar da yetiştiği toprağın içeriğine bağlı olarak çeşitli miktarlarda selenyum içermektedir (Gebre vd., 1984; Dongbo vd., 2015). Bitkiler selenyumunu yetiştirildikleri topraktan alırlar (Groff, Gropper & Hunt, 1995). Bazı besinlerin yüksek düzeyde selenyum içerdiği bilinmektedir. Besinsel selenyum çoğunlukla selenometiyonin ve selenosistein gibi organik bileşikler şeklinde olup başlıca tahıllar, et, maya ve sebzelerle alınır (Cao vd., 2004). Genellikle hayvansal gıdalarda özellikle ette selenyum bileşikleri, bitkilerdekine oranla daha fazladır. Selenyumca fakir topraklı ülkelerde hayvanların yiyeceklerine sodyum selenit eklenmesi yaygın bir uygulamadır. Bazı balıklar dışında, deniz ürünlerinin selenyumun en iyi kaynağı olduğuna inanılmaktadır (Groff, Gropper & Hunt, 1995; Burk, 1990).

2.3.2. Selenyumun bedende emilimi

Birçok selenyum formu, proteinlerin içerisindeki aminoasitlerin birer parçası olarak bedene girer. Hayvan ve bitkilerde bulunan selenomethionin ve selenosistein, bedene giren ilk önemli selenyum formudur (Burk, 1990). Selenosisteinin ilk emilimi ince bağırsak çevresinde olurken midede emilim hemen hemen hiç gerçekleşmez. Selenometiyonin, ince bağırsakta tamamına yakın bir oranda emilir. Selenyumun diğer formları da selenometiyonine benzer şekilde emilir. Bu elementi inorganik formlarının emilimi bağırsak içeriğine bağlı olarak değişiklik gösterir. Bu değişiklik %50 ila %100'lere kadar ulaşabilir. Beden selenyum düzeyi bu emilimi engellemez. Selenyumun emiliminin baskılanması ya da teşvik edilmesi birçok besinsel faktörle yakından ilişkilidir. İndirgenmiş glutatyon ile birlikte A, C ve E vitaminleri bu elementin emilimini artırır. Bunların aksine, civa gibi ağır metaller elementin emilimini azaltır (Groff, Gropper & Hunt, 1995).

2.3.3. Selenyumun bedende depolanması

Glutasyonun bir parçası olarak kalp, karaciğer, böbrek, akciğer, pankreas ve kas yüksek düzeyde selenyum içerir. Bedende en çok karaciğerde bulunur (Burk, 1990; Groff, Gropper & Hunt, 1995). Kırmızı kan hücrelerinin plazmaya göre 4 kat daha fazla glutasyon içeriyor olması dikkate değer bir gerçektir (Powers, Ji & Leeuwenburgh, 2001).

2.3.4. Selenyumun bedenden uzaklaştırılması

Selenyumun dışkıyla atılımı çok fazla görülmez, bunun yerine idrarla atılması normal fizyolojik süreçte izlenen temel yoldur. Yüksek doz selenyum alımı, elementin solunum yoluyla dimetilselenit şeklinde uzaklaştırılmasına yol açar. Akciğer yoluyla kayıp, uçucu selenyum bileşiklerinin neden olduğu sarımsak kokusu ile karakterizedir (Burk, 1990; Groff, Gropper & Hunt, 1995).

2.3.5. Selenyumun fizyolojik görevleri

Hayvanlarda selenyum içeren, 11 selenoprotein türü bulunduğu bilinmektedir. Bu selenoproteinler redoks enzimleri olup, antioksidan sistemde, kanser mekanizmasında ve tiroid hormon işlevlerinde görev alırlar. Bazı hipotezlere göre, sitokrom p450 sisteminin korunmasında, DNA onarımında, enzim aktivasyonunda ve bağışıklık sisteminin işleyişinde görevleri vardır. Selenoprotein ailesinde başta glutasyon peroksidaz olmak üzere, iyodotronin deiodinaz ve tioredoksin reduktaz bulunur. Ekstraselüler bir protein olan selenoprotein P, oksidatif yaralanma ve selenyum taşınmasında görev alır. Hücre içerisindeki toplam glutasyon peroksidaz, 2:1 oranında sitozol ve mitokondriyal matriks arasında dağılmıştır. Bugüne kadar 4 farklı glutasyon peroksidaz tanımlanmıştır. Glutasyon peroksidazın 3 formu (sitozol, plazma ve fosfolipid hidroperoksit) ve selenoprotein P, antioksidan sistemlerin en önemli unsurlarıdır (Balakrishnan, Anuradha, 1998; Tran vd., 2010).

2.3.6. Bedende selenyum eksikliği

Selenyum eksikliği insanlarda, bazıları ölümcül olabilen oldukça geniş kapsamlı belirtilere yol açar. Buna ilişkin ilk kanıtlar 1979 yılında Çin'de bilim adamlarının selenyum eksikliği ile ortaya çıkan Keshan ve Kashin-Beck's hastalığını bulmaları ile elde edildi. Keshan hastalığı kardiyojenik şoka ve bazı durumlarda konjestif (kan göllenmesine neden olan) kalp yetmezliğine neden olabilen bir durumdur. Kronik durumlarda hasta çeşitli derecelerde kalp yetmezliği ve kalp büyümesi ile karşı karşıya kalır (Burk,

1990; Groff, Gropper & Hunt, 1995). Keshan hastalığı genellikle çocukları ve genç kadınları etkilerken, Kashin-Beck's hastalığı erken gençlik döneminde etkisini gösterir. Bu hastalık çeşitli tiplerde kireçlenme ile sonuçlanır. Hastalık genellikle sinirlerin ve kıkırdak doku hücrelerinin bozulması ile belirlenir. Kıkırdak doku hücrelerinin harabiyeti, cücelik ve eklem bozukluğuna neden olur (Burk, 1990). Selenyum eksikliği semptomları; kas ağrıları, kilo kaybı, saç ve deride pigment kaybı, tırnak yataklarında beyazlamadır (Groff, Gropper & Hunt, 1995). Antioksidan özelliğe sahip, kalp ve iskelet kaslarında bulunan selenoprotein W eksikliğinde, beyaz kas hastalığı görülmektedir (Tran vd., 2010).

Selenyum eksikliği diğer elementlerle etkileşimden de meydana gelebilir. Kurşun ile selenyum etkileşir ve elementin doku düzeyini belirgin şekilde azaltır. Bu olayın mekanizması tam olarak açıklanmamış olmakla birlikte, her iki elementin de sülfidril gruplarına bağlanıyor olmasından kaynaklandığına ilişkin görüşler öne sürülmektedir. Görünüşe göre, demir ve bakır da selenyum ile etkileşerek elementin dokuya alınımını engeller. Beden azalmış metiyonin düzeyi ile karşı karşıya kaldığında bu açığı beden proteinlerine selenometiyonin bağlayarak kapatır ve bu da bedende erişilebilir serbest selenyum düzeyini düşürür (Burk, 1990).

2.3.7. Selenyum ve kanser

1949'da Clayton ve Baumann ve onlardan yirmi yıl sonra da Shamberger (1969) hayvanlarla yaptıkları çalışmalarda selenyumun kimyasal karsinogenezisi baskıladığını belirlediler. Takip eden yıllarda insanlarda kanser ve selenyum arasında ters bir orantı olduğunu belirten bulgulara rastlandı. Bununla ilgili ilk raporlar Shapiro (1972) ve Schrauzer (1976)' den geldi.

1980'lerde selenyumun hayvanlarda kanseri engellediği yolunda yayınlar gündeme gelmeye başladı. Griffin ve Lane (1981) selenyumun inorganik formları olan selenit ve selenyum dioksitin kanserde etkilerini özetlediler. İkinci yayın, Milner ve Hsu'dan (1981) geldi. Milner ve Hsu, selenyumun yalnızca inorganik formlarının değil, organik formlarının da kanserli hücre çoğalmasını önlediğini kanıtladılar. Farelerde yapılan çalışmalarda; kanserli hücre çoğalmasını selenometiyonin ve selenosisteine gibi selenoaminoasitler kadar selenit, selenat ve selenyum dioksitin de baskıladığı görüldü. Son 20 yılda hücre kültürü ve hayvan modelleri çalışmalarında birçok selenyum bileşiğinin kanser oluşumunu önleyici işlevi belirlendiyse de tüm selenyum bileşiklerinin bu etkiye sahip olmadığı da bulgular arasındaydı. Örneğin hayvanlarda 1-1,5 ppm'nin altındaki diyetel selenyum takviyesinin oluşumunu önleyici işlevi olmadığı görüldü (Combs, Grey, 1998).

2.3.8. Selenyum toksisitesi

Selenyum, düşük miktarlarda yararlı fakat yüksek miktarlarda toksik etki gösterir. Selenyumun organik veya inorganik uzun süreli alınımı kronik toksisiteye neden olur. Selenometiyonin, selenit ve selenat selenyumun toksik bileşikleridir. Selenyumun 1 mg/kg ve üstündeki dozları toksik etkiler yapabilir. Bu yüksek dozlar: karaciğer, kalp ve iskelet kası hasarına neden olabildiği gibi, saç kaybı, tırnaklarda beyazlama, ağızda sarımsak kokusu, metalik tat, deri bozukluğu, sindirim sistemi rahatsızlığı, bulantı ve kusma, letarji, depresyon, sinirlilik, duyuşal bozukluklar, kilo ve diş kaybı, selenozis ve kronik selenyum toksisitesi ile karakterizedir. Dahası aşırı doz semptomları ateş, solunum artması, sindirim sisteminde bozukluk, felç ve çok ekstrem durumlarda ölüm görülebilir (Dodig, Cepelak, 2004).

2.3. Serbest Oksijen Radikalleri

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen uzaysal bölgede ve çift olarak bulunurlar. Moleküllerin çoğu çift elektronlu, az sayıdaki moleküller ise tek yani eksik elektronludur. Eksik elektronlu moleküller bulabilecekleri herhangi bir molekül ile iletişime girerek, ya bir elektron alır, ya da ona bir elektron verirler. Fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar sırasında başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine girip onların yapısını bozan bu moleküllere serbest oksijen radikalleri (SOR) veya reaktif oksijen türleri (ROS=reactive oxygen species) denir (Halliwell, Gutteridge, 1990).

Fizyolojik koşullarda serbest oksijen radikallerinin bedende bulunmasının yaşamsal önemi vardır. Bağışıklık sistemiyle antijenlerin ortadan kaldırılmasında özellikle de fagositozda önem taşırlar (Hamptom, Kettle & Winterbourn, 1998). Hücresel haberciler olarak veya redoks durumu üzerinden hücresel iletişim veya hücrelerin biyogeneğinde (Sen, 2001); aynı zamanda detoksifikasyon, glikojen depolanması ve enzim aktivasyonunda görev alırlar (Jenkins, 2000). Kas kasılmasında da önemli görevleri vardır. Serbest oksijen radikallerinin baskılanması kas liflerinin kasılma gücünde kayba, tersine artırılması kasılma gücünde artışa neden olmaktadır (Reid, 2001).

Serbest oksijen radikallerinin en önemlileri süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleridir (Halliwell, Gutteridge, 1990). Hidrojen peroksit zarlardan kolaylıkla geçtiğinden hücreler üzerinde bazı fizyolojik görevleri olabilir, fakat çiftlenmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz. Bu nedenle serbest oksijen radikalleri, süperoksit gibi radikaller, ayrıca hidrojen peroksit gibi radikal olmayanlar için ortak olarak kullanılan bir terimdir (McCord, 1993). Oksijen molekülü, orbitalinde çiftlenmemiş elektron taşıyorsa süperoksit radikali olarak adlandırılır. Diğer serbest oksijen radikalleri grubunda ise normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik molekül olan tekli (singlet) oksijen bulunmaktadır. Tekli

oksijen molekülü yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron taşır. Tekli oksijen hücre zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksidlerin oluşumuna yol açar (Halliwell, 1991).

Organizmada pek çok türde serbest oksijen radikali oluşabilir. Ancak en sık olarak lipid yapılarla oluşur. Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali oluşur. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikalini oluşturur. Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksidler oluşur. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonunu hızlandırır. Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehid grubundan malondialdehid (MDA)'tir. MDA üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile meydana gelir. Oluşan MDA, hücre zarlarında iyon alışverişine etki ederek zardaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (Porter, 1984; Kalender vd., 2002).

2.3.1. Serbest oksijen radikalleri ve oksidatif stres

Serbest oksijen radikalleri oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, elektronları hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif stres meydana getirirler. Oksidatif stres, organizmadaki prooksidan ve antioksidan dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır. Radikaller; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi temel hücresel bileşenlerde hasara yol açabilme özelliğine sahiptir. Oluşan bu hasarın kanser, ateroskleroz, amiloidoz, yaşa bağlı bağışıklık yetersizliği ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkili olduğu ve biyolojik yaşlanma sürecinde rol oynadığı bilinmektedir (Kopani vd., 2006).

Serbest oksijen radikalleri; aktive olmuş fagositler, antineoplastik ajanlar, radyasyon, alışkanlık yapan maddeler, çevresel ajanlar ve stres, küçük moleküllerin otooksidasyonu, enzimler ve proteinler, mitokondriyal elektron taşıma sistemleri, peroksizomlar, plazma zarı ve oksidatif stres yapıcı durumlardan kaynaklanabilir. Serbest oksijen radikalleri hücrelerin protein, DNA, karbonhidrat, lipidler, enzimler ve diğer molekül grupları ile reaksiyona girerek onların metabolizmalarını etkilerler. Ekstrasellüler matrikste hyaluronik asit ve kollajen yapısında değişiklik meydana getirerek dokularda hasara neden olurlar. Zar yapısında yer alan fosfolipidlerdeki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile doğrudan hücrelere zarar verirler. Ayrıca lizozom ve mitokondrileri çevreleyen zarların geçirgenliğini artırarak parçalarlar. Bedende her şey düzenli çalışırsa düşük düzeyde ortaya çıkan bu etkiler temizleyici enzimler ve antioksidan maddelerle etkisiz hale getirilirler. Bunların üretimleri

organizmanın temizleme olanaklarını aştığında dokuda yıkım başlar (Halliwell, Gutteridge, 1990; McCord, 1993).

2.3.2. Oksidatif stres kaynaklı böbrek hasarı

Bazı nefrotoksik ajanların böbrekteki toksik etkisi süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), hidroksil radikali (OH^-) ve hipoklorik asit ($HOCl^-$) gibi hücredeki normal metabolik işleyiş sırasında ortaya çıkan, paylaşılmamış bir veya daha fazla elektronu olan atom ya da moleküllerden oluşan serbest oksijen radikallerinin üretimi ile olur. Oksidatif stres kaynaklı böbrek hasarı glomerüler, tübülointerstisyel ve endotelyal değişiklikleri içerir. Akut böbrek yetmezliği ile beraber olan oksidatif stres hasarı serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve antioksidan ajanlar arasındaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Bazı ilaçların nefrotoksik etkileri serbest oksijen radikali oluşumunun artışı ile ilgilidir (Parlakpınar, Örüm & Acet, 2012).

2.4. Antioksidanlar

Protein, karbonhidrat, lipid ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddeye antioksidan (AO) denir. Normal koşullarda metabolizmanın ürettiği serbest oksijen radikalleri antioksidan maddeler tarafından sürekli olarak etkisiz hale getirilirler. Organizmada yer alan antioksidan savunma sistemleri serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirebildikleri sürece patolojik bir durum ortaya çıkmaz. Ancak denge antioksidanların aleyhine bozulduğunda güçlü bir hasar olarak oluşan oksidatif stres, lipid, karbonhidrat ve proteinler üzerine etki ederek, hücrede zar hasarı, karsinogenez veya mutajenez gibi olumsuz gelişmelere yol açabilir. Bu nedenle, serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar arasındaki dengenin korunması organizmanın canlılığını sürdürmesi açısından önemlidir (Yalçın, 1998).

Antioksidanların serbest oksijen radikalleri üzerine etkisi dört şekilde olur (Valko vd., 2006);

1. SOR'ları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme şeklindeki toplayıcı etki (antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler),

2. SOR'a bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme şeklindeki bastırıcı etki (vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler),

3. SOR zincirlerini kırarak işlevlerini engelleyen zincir kırıcı etki (hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler),

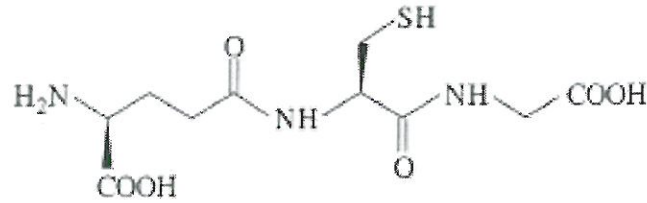
4. SOR'ların oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde onarıcı etkidir.

Antioksidanlar, endojen veya eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen kaynaklı antioksidanlar arasında süperoksit dismutaz, katalaz, mitokondrial sitokrom oksidaz, melatonin, transferin, hemoglobin, albümin sayılabilir. Askorbik asit, folik asit, α -tokoferol, allopurinol, demir şelatörleri, barbitüratlar gibi vitamin, ilaç ve gıdalarda bulunan çeşitli maddeler ise eksojen kaynaklı antioksidanları oluştururlar (Yalçın, 1998).

2.4.1. Enzimatik antioksidanlar

2.4.1.1. Redükte glutatyon

Glutatyon (GSH), organizmanın bütün hücrelerinde bulunur ve hücrelerin protein yapısı dışındaki sülfidril grubu içeriğinin %90 kadarını oluşturur. Zararlı bileşiklerin etkisizleştirilmesinde önemli görevleri vardır. Tripeptit yapıdaki GSH (L- γ - glutamil-L-sisteinil-glisin) oksidatif stres ve radyasyona karşı hücrelerin korunmasında önemli rol oynar (şekil 2.4). Sitozolik GSH redoks döngüsünde substrat olarak görev alırken, reaktif oksijen türlerine karşı direkt olarak da savunma yapabilir (Knapen vd., 1999).



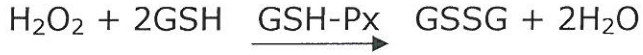
Şekil 2.4. Redükte glutatyonun yapısı (Knapen vd., 1999)

Hücrede milimolar derişimde bulunan glutatyon başlıca redükte formda (GSH) bulunur ancak okside formda (GSSG) disülfid dimeri olarak da bulunabilir. Redükte glutatyonun hücresel seviyesi γ -glutamil transpeptidaz, aminoasit taşıyıcıları, glutatyon sentetaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktazı içeren çoklu bir enzim sistemi tarafından korunur (Cnubben vd., 2001).

Redükte glutatyon radikal kaynaklı hasara karşı koyarken antioksidan enzimlere substrat olarak görev yapar ve bir radikal tutucusu (scavenger) gibi davranır. Glutatyon özellikle peroksidaz ve redüktaz enzimlerinin aktiviteleri için son derece önemlidir. Okside glutatyon da indirgenmiş glutatyonun yükseltgenmesiyle oluşur. Oksidatif stres sürecinde, GSH düzeyi azalırken, okside glutatyon düzeyi artar. Bu durumda biriken su ve organik hidroperoksitler glutatyon peroksidaz ve redüktaz etkisiyle ortadan kaldırılırlar. Bu bileşiğin aktif bir şekilde hücre dışına çıkarılması GSH tükenmesine yol açmaktadır. GSH, hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini de engeller. Proteinlerdeki sülfidril gruplarının redükte halde kalmasını sağlar ve bu grupları oksidasyona karşı korur (Knapen vd., 1999).

2.4.1.2. *Glutasyon peroksidaz*

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) hidrojen peroksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Tetramerik ve 4 selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Birbirine kenetli enzim sistemi GSH-Px ve GSH-Rd glutasyon harcıyarak suyun (H₂O₂) redüksiyonunu katalizler (Cnubben vd., 2001).



Glutasyon peroksidazın selenyuma bağılı ve bağımsız 2 izomeri vardır. Selenyuma bağılı izoenzimi selenosistein formunda bulunmaktadır. Bu enzim hem hidrojen peroksiti hem de organik peroksitleri kullanabilir. Selenyumdan bağımsız GSH-Px ise, hücrenin mitokondri (%30) ve sitozol (%70) fraksiyonlarında yerleşip, yalnızca lipid hidroperoksitlerini metabolize edebilmektedir (Cnubben vd., 2001).

Selenyum bağımlı üyelerden, GSH-Px-1 veya hücrenel glutasyon peroksidaz bütün hücrelerde bulunabilen, tetramerik yapıda, sitozolik bir enzimdir. Eritrosit, böbrek ve karaciğerde yüksek miktarda bulunur. GSH-Px-2 veya gastrointestinal glutasyon peroksidaz insanlarda karaciğer ve sindirim sisteminde üretilir; ama böbrek, kalp, akciğer, plasenta ve uterusda bulunmaz. GSH-Px-3 veya plazma glutasyon peroksidaz plazmanın lipid kısmından izole edilmiş bir glikoproteindir ve akciğer, plazma ve diğer ekstrasellüler sıvılarda bulunur. GSH-Px-4 veya fosfolipit glutasyon peroksidaz sitozolde, mitokondri ve hücre zarında bulunur. GSH-Px-5 veya epididimal glutasyon peroksidaz selenyum bağılı değildir ve yalnız epididimiste üretilir. GSH-Px-6 hücrenel glutasyon peroksidaz ile homoloji gösterir, burun epiteli ve embriyolarda yapılıdır (Haan vd., 1998; Knapen vd., 1999).

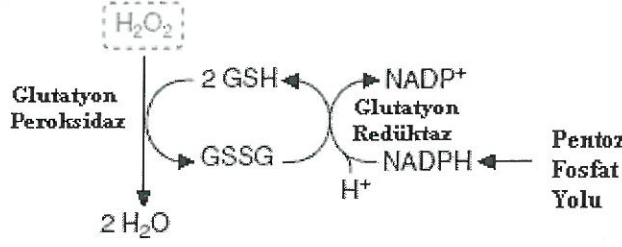
2.4.1.3. *Glutasyon redüktaz*

Okside glutasyon, NADPH bağılı flavo enzim olan glutasyon redüktaz (GSH-Rd) tarafından redükte formuna (GSH) indirgenir (Knapen vd., 1999).



Glutasyon redüktazın kalıtımı otozomal dominanttır, 8. kromozom üzerindedir. Glutasyon peroksidaz ile benzer doku dağılımı gösterir. GSH-Rd, flavin adenin dinükleotid (FAD) içerir, NADPH'den bir elektronun GSSG'nin disülfid bağlarına aktarılmasını katalizler (Şekil 2.5). Bu nedenle

NADPH serbest radikal hasarına karşı gereklidir ve kaynağı pentoz fosfat yoludur (Özkan, Fışkın, 2004).



Şekil 2.5. Glutasyon redoks döngüsü (Knapen vd., 1999)

2.4.1.4. Süperoksit dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit anyonunun (O₂^{•-}) hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizler.



Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı başlıca enzimatik savunma mekanizmalarıdır. Süperoksit dismutaz ile O₂^{•-}'nin dismutasyonu ile su çıkarılması hücre için biyolojik avantaj sağlar. Hücreden su çıkarılması için süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile birlikte çalışır (Smith, Hill & Lehmal, 1983).

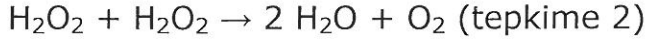
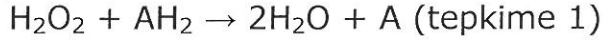
Süperoksit dismutaz enziminin bakır-çinko (Cu-Zn) SOD ve mangan (Mn) SOD olmak üzere iki tipi vardır. Bunların hücre içindeki dağılımı; tetramerik Mn formunun esas olarak mitokondriyal matrikste, kısmen sitoplazmada; dimerik Cu-Zn formunun ise esas olarak sitoplazmada ve kısmen mitokondri zarları arası alanda bulunması şeklindedir. Karaciğer hücrelerinde, yaklaşık %70'i sitoplazmada bulunmaktadır. Cu-Zn SOD enziminin aktivitesi bakıra, konformasyonu ise çinkoya bağlıdır (Blum, Fridovich, 1985; Mena vd., 1991).

Süperoksit dismutaz aktivitesi bakımından dokular arasında fark vardır. Karaciğer, adrenal bez, böbrek ve dalakta en yüksek düzeydedir. Enzimin aktivitesi, doku oksijenasyonuna duyarlı olan biyosentezi aracılığıyla düzenlenmektedir (Southorn, Powis, 1998).

2.4.1.5. Katalaz

Katalaz (KAT), yapısında hem grubu içerdiğinden bir hemoprotein olarak kabul edilmiştir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve mukoz zarlarda yüksek miktarda bulunmaktadır. Su oluşum hızının düşük olduğu

durumlarda peroksidatif tepkimeyle (tepkime 1) veya su oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle (tepkime 2) hidrojen peroksiti suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır. Katalaz daha çok hidrojen peroksidin arttığı durumlarda etkilidir (Anderson, Meister, 1998).



Katalaz daha çok peroksidazlarda, glutatyon peroksidaz sitozol ve mitokondride birbirlerini tamamlayıcı bir yerleşim gösterirler. Böylece hücre içi su düzeyini etkin bir şekilde düzenlerler (Burk, 1990).

2.5. Toplam Antioksidan Seviye ve Oksidatif Stres İndeksi

Normal koşullarda organizma, dış ve/ya iç nedenlerle oluşan serbest oksijen radikalleri ve bunlara bağlı gelişen oksidatif stres ile savaşan karmaşık bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Bedenin oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde, kanın çok önemli görevleri vardır (Yao, Reddy & McElhinny, 1998).

Toplam antioksidan seviyesine (TAS) en büyük katkı plazmada bulunan antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest oksijen radikallerini kaptan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan durumun %85'inden fazlasını oluşturur. Bu fark kanda bilirubin, indirgenmiş glutatyon, flavonoidler, α - tokoferol ve β -karoten gibi antioksidan durumun bileşenlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin düzeylerinin fazla olmasına bağlıdır. Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu sinerjizme örnek olarak; glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolü yeniden aktifleştirmesini sağlaması verilebilir. Oksidatif stres ve antioksidan durumun değerlendirilmesi için birçok belirteç ve bunları ölçen farklı yöntemler bulunmaktadır. Ancak bu belirteçlerin ayrı ayrı ölçülmesi hem zaman alıcı hem de masraflıdır. Bu nedenle son yıllarda toplam oksidan seviye (TOS) ve (TAS) ölçülmekte ve oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplanmaktadır (Ghiselli, Serafini & Natella, 2000; Erel, 2004; Tarpey, Wink & Grisham, 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda yaklaşık 3 aylık, erkek, 200±20 gram ağırlığında, sağlıklı, Sprague-Dawley cinsi, albino sıçanlar kullanıldı. Tüm deney hayvanları T.C. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (TICAM) temin edilerek deney süresince 12:12 aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı (22±2 C°) ve nemi (%45-50) otomatik ayarlanmış odalarda yaşatıldı.

Bu çalışma ESOGÜ Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 27.02.2013 tarihli ve 320/2013 nolu kararı ile kabul edilmiş ve ESOGÜ Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında (proje kodu: 2014-254) desteklenmiştir.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Selenyum	: Sigma 209643-50 gr, ABD
Siklofosfamid	: Sigma C0768-10 gr, ABD
MDA (TBARS)	: Cayman 10009055, Kanada
GSH	: Cayman 703002, Kanada
SOD	: Cayman 706002, Kanada
Katalaz	: Cayman 707002, Kanada
Antioksidan Assay Kit	: Cayman 709001, Kanada
Sistatin C Elisa Kit	: R&D, ABD
Kreatinin	: Biolabo 80107, Fransa
Hematoksilen solüsyonu	: Thermo, ABD
Eozin solüsyonu	: Thermo, ABD
İzotonik NaCl çözeltisi	: Eczacıbaşı, Türkiye
Ksilen	: Merck, Almanya
Formaldehit	: Merck, Almanya
Ksilazin	: Sigma X1126-1 gr, ABD
Ketamin	: Richterpharma ag, Avusturya
Etanol absolü	: Merck, Almanya
Xylenol Orange Tetrasodium Salt	: Sigma 398187-5 gr, ABD
Gliserol	: Sigma 49770-1L, ABD

o-Dianisidin dihidroklorit	: Sigma D3252-5 gr, ABD
2-Tiyobarbitürük asit	: Sigma T5500-100 gr, ABD
Fosfotungstik asit hidrat	: Sigma P4006-25 gr, ABD
Diamond Tips Eco-pack D200	: Gilson, ABD
ABTS	: Sigma, A1888-5 gr, ABD
Hidrojen peroksit	: Sigma, 216763-500 mL, ABD
Sodyum asetat	: Sigma S8750-1kg, ABD

3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Hassas Terazi	: Super Scale-Jadaver, Türkiye
Etüv	: EN 120, Nüve inkübatör, Türkiye
Masa Üstü Santrifüj Cihazı	: NF 400R, Nüve, Türkiye
Karıştırıcı (Vortex)	: MX-S(F), Dragon Lab, Çin
Kan Sayım Cihazı	: MS 4S, Fransa
Mikro plaka okuyucu	: VersaMax, Kalfornia, ABD
Mikrotom	: Leica RM 2125, Türkiye
Dijital kamera sistemi	: Olympus DP70, ABD
İstatistik Paket Programı	: SPSS 21.0, ABD

3.3. Yöntemlerin Uygulanması

3.3.1. Deney hayvanlarının hazırlanması

Her kafeste en fazla 4 hayvan olacak şekilde yerleştirildi ve bütün deney hayvanları enjeksiyondan önce bir haftalık karantinaya alındı. Hayvanlar ilk enjeksiyondan ve öldürülmeden önce tartılarak ağırlıkları saptandı.

Deney bittiğinde, tüm sıçanların etik kurallarına uygun olarak, ketamin/ksilazin anestezisi altında göğüsü açılıp yüreğe enjektörle girilerek alınan kan yapılacak işleme göre, normal veya EDTA'lı tüplere alındı.

3.3.2. Deney grupları

Deney hayvanları arasından rastgele seçimle her birinde yedişer (n=7) sıçan olmak üzere toplam 6 grup oluşturuldu. Bu gruplar aşağıda gösterildiği gibi belirlendi (Tablo 3.1.).

Grup 1: Kontrol: Her hayvana 0.5 mL serum fizyolojik (SF) enjeksiyonu yapıldı.

Grup 2: Her hayvana tek doz 150 mg/kg CP+0.5 mL SF enjeksiyonu yapıldı.

Grup 3: Her hayvana 0.5 mg/kg Se+0.5 mL SF enjeksiyonu yapıldı.

Grup 4: Her hayvana 1 mg/kg Se+0.5 mL SF enjeksiyonu yapıldı.

Grup 5: Her hayvana 150 mg/kg CP+0.5 mg/kg Se enjeksiyonu yapıldı.

Grup 6: Her hayvana 150 mg/kg CP+1 mg/kg Se enjeksiyonu yapıldı.

Tablo 3.1. Uygulanan siklofosfamid (CP) ve selenyumun (Se) gruplara göre dağılımı

Gruplar	150 mg/kg CP	0.5 mg/kg Se	1 mg/kg Se
1. grup (kontrol)			
2. grup	+		
3. grup		+	
4. grup			+
5. grup	+	+	
6. grup	+		+

3.3.3. Kimyasal maddeler ve enjeksiyonları

Siklofosfamidin 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. Selenyumun 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozları 0.5 mL serum fizyolojikte (SF) eritilerek çözelti hazırlandı ve i.p. olarak uygulandı. Bütün hayvanlar ilk enjeksiyondan ve öldürülmeden önce tartılarak ağırlıkları saptandı ve böylece uygulanacak ilaç dozları belirlendi. Sadece siklofosfamid verilen 2. gruptaki hayvanlar siklofosfamid enjeksiyonundan 1 gün sonra anestezi edildi. Siklofosfamid ile birlikte selenyum verilen gruplarda selenyum uygulamasına siklofosfamid uygulamasından 5 gün önce başlandı ve deney süresince devam edildi.

Altıncı günde hayvanlar tekrar tartılarak uygulanacak siklofosfamid dozu belirlendi ve böylece 6. gün siklofosfamid ile birlikte selenyum verildi. Yedinci günde hayvanlar anestezi edilerek böbrekleri alındı (Ayhancı vd., 2010).

3.3.4. Anestezi ve cerrahi uygulamalar

Tüm deneysel çalışmalar temiz bir ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi. Ketamin/ksilazin ile anestezi edilmiş hayvanların yüreklerine enjektörle girilerek yürekten kan alımı yapıldı. Alınan kan örnekleri 10 dakika 3000 devirde döndürüldü ve serumlar elde edildi (Theocharis vd., 2001). Polietilen tüplere aktarılan serum örnekleri biyokimyasal analizler için derin dondurucuda (-80°C) korundu.

3.3.5. Malondialdehid seviyesinin belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehid (MDA) seviyesi modifiye Yagi (1994) yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bu yöntemin esası tiyobarbütirik asit (TBA) ile MDA'nın reaksiyon vererek 532 nm dalga boyunda ölçülebilen renkli bir bileşik vermesi kuralına dayanmaktadır. Tetrametoksipropan standart olarak kullanıldı. Sonuçlar nmol/mL olarak tanımlandı.

3.3.6. Glutasyon seviyesinin belirlenmesi

Glutasyon (GSH) seviyesi ölçümü Cayman (Michigan, ABD) marka kolorimetrik assay kit kullanılarak, üretici firmanın önerileri doğrultusunda spektrofotometrik olarak belirlendi. Örneklerin absorbanansı 405 nm'de Versamax tunable mikro plaka okuyucu (Kalifornia, ABD) kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar µM olarak tanımlandı.

3.3.7. Süperoksit dismutaz seviyesinin belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD) seviyesinin ölçümü Cayman (Michigan, ABD) marka kolorimetrik assay kit kullanılarak, üretici firmanın önerilerine uyularak spektrofotometrik olarak belirlendi. Örneklerin absorbanansı 405 nm'de Versamax tunable mikro plaka okuyucu (Kalifornia, ABD) kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar U/mL SOD olarak tanımlandı.

3.3.8. Katalaz seviyesinin belirlenmesi

Katalaz (KAT) düzeyi Cayman (Michigan, ABD) marka kolorimetrik assay kit kullanılarak üretici firmanın önerisi doğrultusunda spektrofotometrik olarak belirlendi. Örneklerin absorbanansı 540 nm'de VERSA max tunable mikro plaka okuyucu (Kalifornia, ABD) kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar nmol/dak./mL olarak tanımlandı.

3.3.9 Toplam oksidan ve toplam antioksidan seviyelerinin ölçümü

Toplam oksidan ve antioksidan seviyeleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda Cayman (Michigan, ABD) marka ticari kolorimetrik assay kit kullanılarak ölçüldü. Örneklerin absorbanları 530 nm dalga boyunda Versamax tunable mikro plaka okuyucu (Kalifornia, ABD) kullanılarak belirlendi (Erel, 2005).

3.3.10. Oksidatif stres indeksinin ölçümü

TOS/TAS oranı alınarak oksidatif stres indeksi (OSİ) değeri hesaplandı. Hesaplama sırasında, TAS değerlerinin birimi, mmol Trolox equivalent/L cinsinden μmol Trolox equivalent/L cinsine dönüştürüldü. OSİ = $[(\text{TOS}, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equivalent/L}) / (\text{TAS}, \mu\text{mol Trolox equivalent/L}) \times 100]$ formülü kullanılarak hesaplandı (Aycicek, Erel & Kocyigit, 2005).

3.3.11. Kreatinin seviyesinin belirlenmesi

Serum kreatinin seviyesi fotometrik olarak Heinegard ve Tiderström'ün (1973) geliştirdiği yöntemin değiştirilmesiyle ölçüldü. Yöntemin esası, serumda bulunan kreatininin pikrik asitle verdiği rengin asidik ortamda yok olması, ancak kreatinin olmayan kromojenlerin verdiği rengin asidik ortamda da sürmesine dayanır. Uygulamada reaksiyon ortamının pH'si < 5.8'e getirildi. Renk şiddetinde asitleştirmeye bağlı azalma spektrofotometrik olarak 520 nm'de belirlendi. Sonuçlar mg/dL olarak tanımlandı.

3.3.12. Sistatin C seviyesinin ölçümü

Sistatin C seviyesi BioVendor (Brno, Çek Cumhuriyeti) marka enzim bağımlı immunosorbent assay kit kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ölçüldü. Örneklerin absorbanları 450 nm dalga boyunda Versamax tunable mikro plaka okuyucu (Kalifornia, ABD) kullanılarak belirlendi. Sonuçlar ng/mL olarak tanımlandı.

3.4. Histolojik Çalışmalar

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

3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler

Tüm veri analizleri SPSS 21.0 ve SigmaStat 3.5 paket programları ile yapılmıştır. Sürekli nicel veriler; n , ortalama ve standart sapma olarak, nitel veriler ise n , ortanca değer, 25'inci ve 75'inci yüzdilik değerler olarak ifade edilmiştir. Bağımsız ölçümlerden oluşan ve normal dağılım gösteren sürekli veriler, One Way Anova (bu testin çoklu karşılaştırmalarında Tukey ve Student Newman Keuls yöntemlerinden yararlanılmıştır) testi ile, normal dağılım göstermeyen skor değişkenlerinden oluşan veriler ise Kruskal-Wallis (bu testin çoklu karşılaştırmalarında Tukey ve Student Newman Keuls yöntemlerinden yararlanılmıştır) testi ile analiz edilmiştir.

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

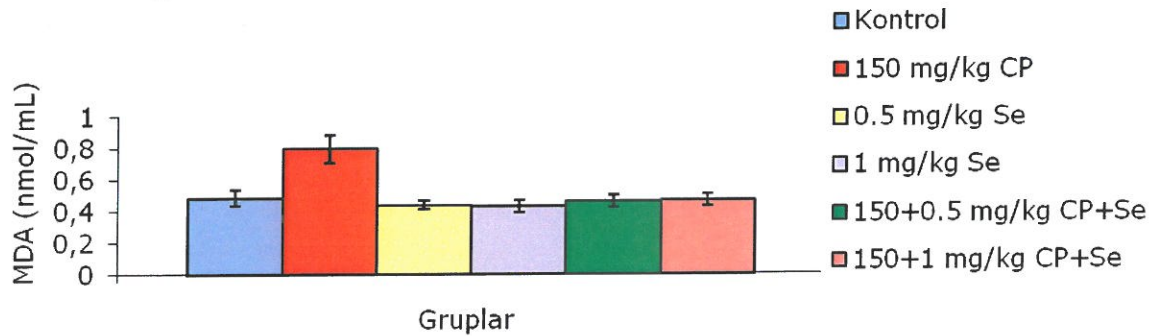
Deney gruplarının MDA, GSH, SOD ve KAT ortalama değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Deney gruplarının MDA, GSH, SOD ve KAT değerleri

Gruplar (n=7)	MDA (nmol/mL)	GSH (μ M)	SOD (U/mL)	KAT (nmol/dak/mL)
Kontrol	0,484 \pm 0,05	6,094 \pm 0,65	18,321 \pm 1,14	28,841 \pm 1,18
II. Grup 150 mg/kg CP	0,798 \pm 0,09	2,706 \pm 0,24	11,850 \pm 1,41	22,161 \pm 1,97
III. Grup 0.5 mg/kg Se	0,440 \pm 0,03	5,823 \pm 0,45	18,095 \pm 0,97	32,716 \pm 2,87
IV. Grup 1 mg/kg Se	0,430 \pm 0,04	6,450 \pm 0,43	19,088 \pm 1,16	40,386 \pm 1,95
V. Grup 150+0.5 mg/kg CP+Se	0,457 \pm 0,04	4,425 \pm 0,32	14,233 \pm 1,08	26,253 \pm 0,56
VI. Grup 150+1 mg/kg CP+Se	0,470 \pm 0,04	7,430 \pm 0,75	15,934 \pm 0,97	34,007 \pm 3,55

Tablo 4.1'de görüldüğü gibi 150 mg/kg CP verilen deney grubundaki MDA miktarı kontrol grubuna göre %65 oranında artmıştır ($p < 0.001$). Sadece 0.5 ve 1 mg/kg selenyum uygulanan gruplarda MDA seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p > 0.05$). Fakat, 150 mg/kg CP ile birlikte 0.5 veya 1 mg/kg selenyum verildiğinde MDA düzeyleri, sadece CP uygulanan gruba göre, sırasıyla %43 ve %41 oranında azalarak kontrol düzeylerine inmiştir ($p < 0.001$). 150+1 mg/kg CP+Se uygulanan deney grubundaki MDA değeri 150+0.5 mg/kg CP+Se uygulanan gruba göre %3 oranında artmıştır ($p > 0.05$).

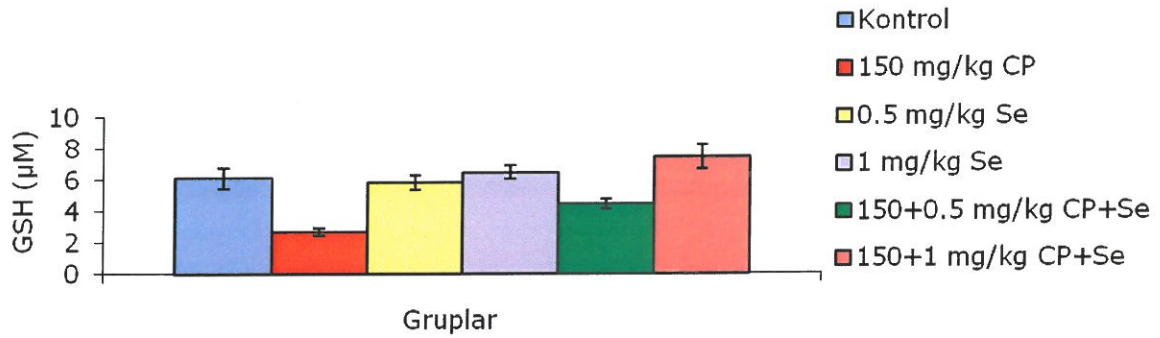
MDA değerleri ayrıca grafiksel olarak da gösterilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Deney gruplarının malondialdehid seviyeleri

Tablo 4.1’de görüldüğü gibi GSH seviyesi 150 mg/kg CP uygulanan grupta kontrol grubuna göre %56 oranında azalmıştır ($p<0.001$). Selenyum (0.5 ve 1 mg/kg) verilen gruplarda GSH seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$). CP ile birlikte 0.5 ve 1 mg/kg Se uygulanan gruplardaki GSH seviyesi sadece CP verilen gruba göre sırasıyla %63 ve %175 oranlarında artmıştır ($p<0.001$). 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki GSH seviyesi 150+0.5 mg/kg CP+Se uygulanan gruba göre %68 oranında artmıştır ($p<0.001$).

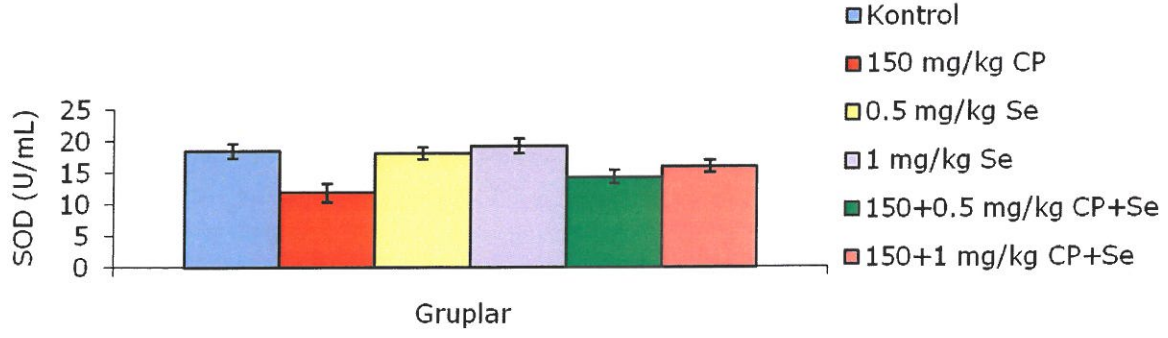
GSH seviyesi bakımından gruplar arasındaki farklar grafiksel olarak da gösterilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Deney gruplarının glutasyon seviyeleri

Tablo 4.1’de gösterilen verilere göre, süperoksit dismutaz düzeyi 150 mg/kg CP uygulanan grupta kontrol grubuna göre %35 oranında azalmıştır ($p<0.001$). Sadece selenyum (0.5 ve 1 mg/kg) verilen gruplarda SOD seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir ($p>0.05$). CP ile birlikte 0.5 ve 1 mg/kg Se uygulanan gruplardaki SOD seviyesi sadece CP verilen gruba göre sırasıyla %20 ve %34 oranlarında artmıştır ($p<0.001$). 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki SOD seviyesi 150+0.5 mg/kg CP+Se uygulanan gruba göre %12 oranında artmış, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

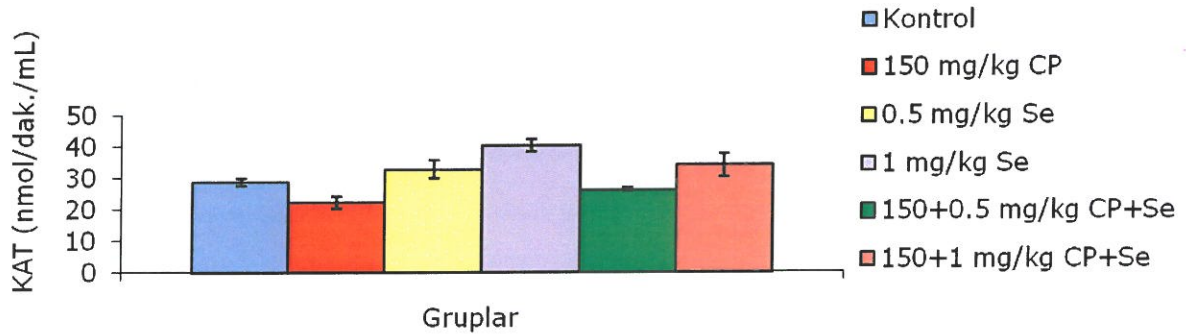
Gruplar arasındaki SOD miktarı bakımından farklar ayrıca grafiksel olarak da gösterilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Deney gruplarının süperoksit dismutaz seviyeleri

Tablo 4.1’de görüldüğü gibi 150 mg/kg CP uygulanan grubun katalaz seviyesi kontrol grubuna göre %23 oranında azalmıştır ($p<0.001$). 0.5 ve 1 mg/kg selenyum uygulanan gruplarda katalaz seviyesi kontrol grubuna göre sırasıyla %13 ve %40 oranlarında artmıştır ($p<0.001$). 150+1 mg/kg CP+Se verilen gruptaki katalaz seviyesi kontrol grubuna göre %18 oranında artmıştır ($p<0.001$). Katalaz miktarı CP ile birlikte 0.5 ve 1 mg/kg Se uygulanan sadece CP verilen gruba göre sırasıyla %18 ve %53 oranlarında artmıştır ($p<0.001$). 150+1 mg/kg CP+Se uygulanan deney grubundaki katalaz miktarı 150+0.5 mg/kg CP+Se uygulanan gruba göre %29 oranında artmıştır ($p<0.001$).

Gruplar arasındaki farklar ayrıca grafiksel olarak da gösterilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Deney gruplarının katalaz seviyeleri

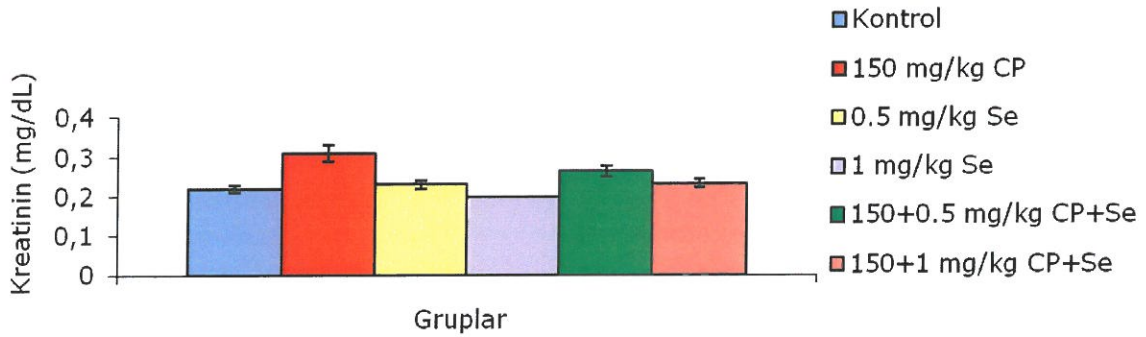
Kontrol ve deney gruplarının kreatinin ve sistatin C düzeyleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Deney gruplarının kreatinin ve sistatin C ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar (n=7)	Kreatinin (mg/dL)	Sistatin C (ng/mL)
Kontrol	0,221±0,01	1751,097±97,15
II. Grup 150 mg/kg CP	0,309±0,02	2492,168±121,91
III. Grup 0.5 mg/kg Se	0,231±0,11	1857,476±74,55
IV. Grup 1 mg/kg Se	0,200±0,00	2000,047±147,20
V. Grup 150+0.5 mg/kg CP+Se	0,264±0,01	2324,581±127,53
VI. Grup 150+1 mg/kg CP+Se	0,233±0,01	2092,443±204,85

Tablo 4.2'deki verilere göre sadece 150 mg/kg CP verilen gruptaki kreatinin düzeyi kontrol grubuna göre %40 oranında artmıştır ($p<0.001$). Kreatinin seviyesi 0.5 mg/kg Se verilen grupta kontrolden istatistiksel olarak farklı bulunmazken, 1 mg/kg Se uygulanan grupta kontrole göre %9 oranında azalmıştır ($p<0.001$). 150+0.5 mg/kg CP+Se verilen gruptaki kreatinin miktarı kontrol grubuna göre %19 oranında artarken ($p<0.001$), 150+1 mg/kg CP+Se verilen gruptaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). 150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki kreatinin değerleri 150+1 mg/kg CP+Se uygulanan gruba göre %12 oranında artmıştır ($p<0.001$).

Gruplar arasındaki farklar ayrıca grafiksel olarak da gösterilmiştir (şekil 4.5).

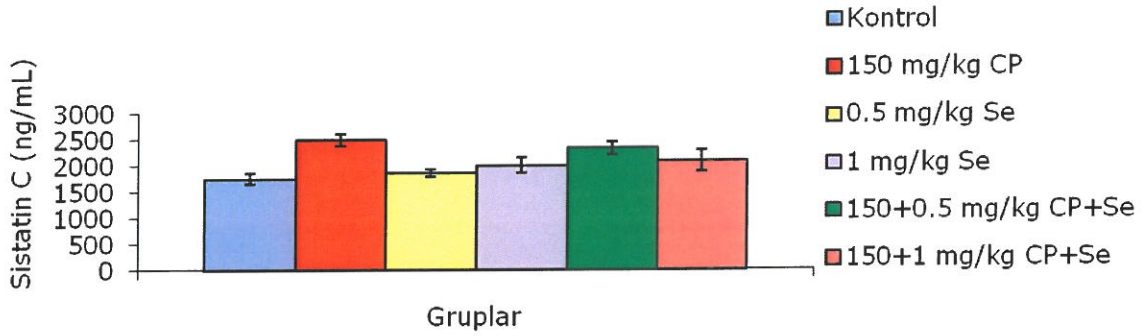


şekil 4.5. Deney gruplarının kreatinin seviyeleri

Sistatin C seviyesi 150 mg/kg CP verilen grupta kontrole göre %42 oranında artmıştır ($p<0.001$). 1 mg/kg Se verilen gruptaki sistatin C miktarı kontrol grubuna göre %14 oranında artmıştır ($p<0.001$). Sistatin C, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se uygulanan deney gruplarında kontrole göre sırasıyla %33 ve %19 oranlarında artmıştır

($p < 0.001$). 150+0.5 CP+Se ve 150+0.1 CP+Se verilen deney gruplarındaki sistatin C seviyeleri 150 mg/kg CP uygulanan deney grubuna göre sırasıyla %7 ($p > 0.05$) ve %16 oranlarında azalmıştır ($p < 0.001$). 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki sistatin C, 150+0.5 mg/kg CP+Se verilen gruba göre %10 ($p < 0.001$) oranında azalmıştır (Tablo 4.2).

Sistatin C seviyelerinin gruplar arasındaki farkları grafiksel olarak da gösterilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Deney gruplarının sistatin C seviyeleri

Deney gruplarının TAS, TOS ve OSİ değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

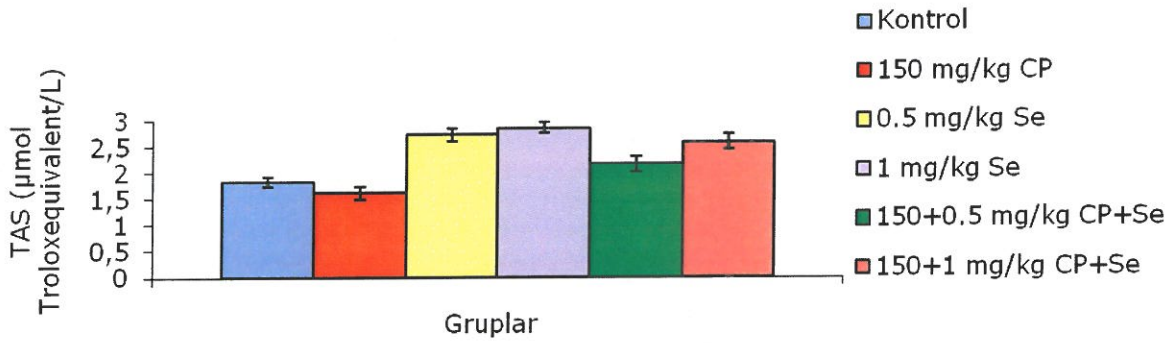
Tablo 4.3. Deney gruplarının TAS, TOS ve OSİ ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Gruplar (n=7)	TAS (μmol Troloxequivalent/L)	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L)	OSİ ($[\text{TOS}/\text{TAS}] \times 100$)
Kontrol	1,838 \pm 0,093	0,482 \pm 0,052	0,026 \pm 0,005
II. Grup 150 mg/kg CP	1,622 \pm 0,126	5,206 \pm 0,769	0,343 \pm 0,041
III. Grup 0.5 mg/kg Se	2,724 \pm 0,124	0,513 \pm 0,060	0,018 \pm 0,004
IV. Grup 1 mg/kg Se	2,859 \pm 0,010	0,650 \pm 0,110	0,025 \pm 0,002
V. Grup 150+0.5 mg/kg CP+Se	2,167 \pm 0,144	1,561 \pm 0,075	0,070 \pm 0,006
VI. Grup 150+1 mg/kg CP+Se	2,588 \pm 0,153	1,134 \pm 0,116	0,045 \pm 0,003

Tablo 4.3'te görüldüğü gibi, 150 mg/kg CP verilen gruptaki TAS değeri kontrol grubuna göre %12 oranında azalmıştır ($p < 0.001$). TAS değeri 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen gruplarda kontrol grubuna göre sırasıyla

%48 ve %55 oranlarında artmıştır ($p<0.001$). 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se uygulanan gruplardaki TAS değeri kontrol grubuna göre sırasıyla %18 ve %41 oranlarında artmıştır ($p<0.001$). 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se uygulanan gruplardaki TAS değeri sadece CP verilen grubuna göre sırasıyla %34 ve %60 oranlarında artmıştır ($p<0.001$). 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki TAS değeri 150+0.5 mg/kg CP+Se uygulanan gruba göre %19 oranında artmıştır ($p<0.001$).

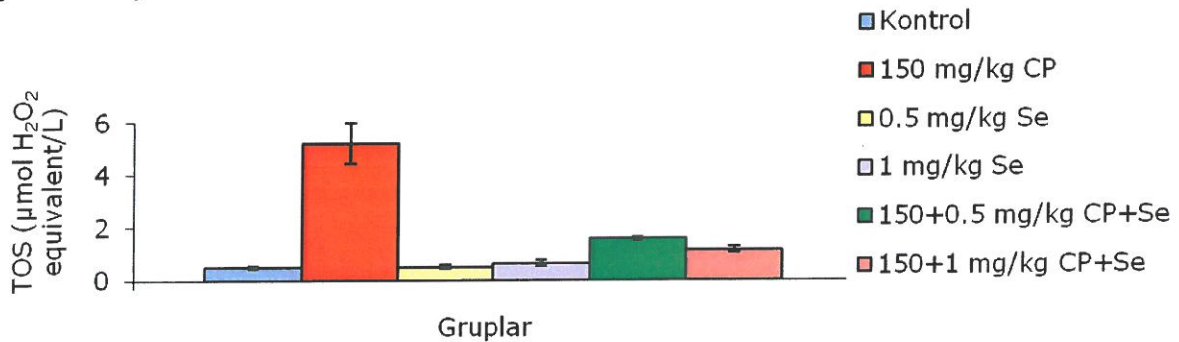
Grupların TAS değerleri arasındaki farklar ayrıca grafiksel olarak da gösterilmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Deney gruplarının TAS değerleri

150 mg/kg CP verilen gruptaki TOS değeri kontrol grubuna göre %980 oranında artmıştır ($p<0.001$). Sadece selenyum verilen gruplarla kontrol grubu arasında TOS değeri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). CP ile birlikte verilen selenyumun 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozlarındaki TOS değeri sadece CP verilen gruba göre sırasıyla %70 ve %78 oranlarında azalmıştır ($p<0.001$). 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se uygulanan gruplar arasında TOS değeri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

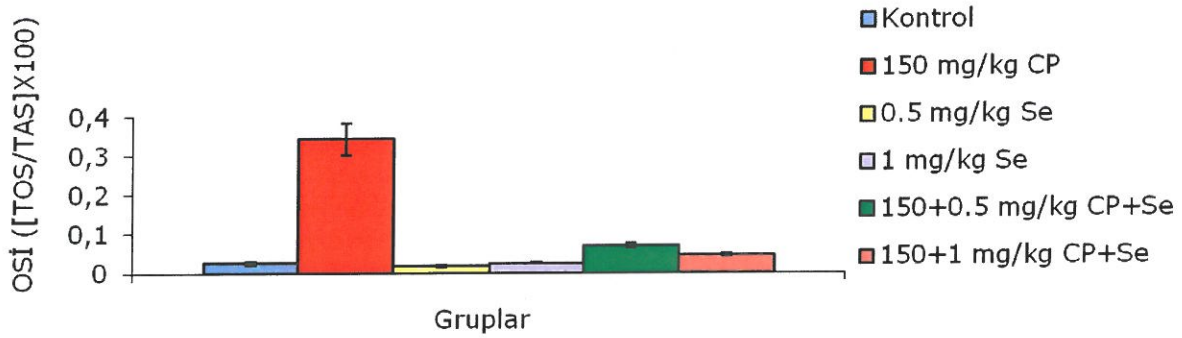
Gruplar arasındaki farklar ayrıca grafiksel olarak da gösterilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Deney gruplarının TOS değerleri

Tablo 4.3'te görüldüğü gibi, sadece CP verilen gruptaki OSİ değeri kontrol grubuna göre %1219 oranında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bir fark göstermiştir ($p < 0.001$). Sadece selenyum verilen gruplarla kontrol grubu OSİ değeri bakımından kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se uygulanan gruplardaki OSİ değeri kontrol grubuna göre sırasıyla %169 ve %73 oranlarında artmıştır ($p < 0.001$). 150 mg/kg CP ile birlikte verilen selenyumun 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozlarındaki OSİ değeri sadece CP verilen gruba göre azalmıştır ($p < 0.001$). 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se uygulanan gruplar arasında OSİ değeri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

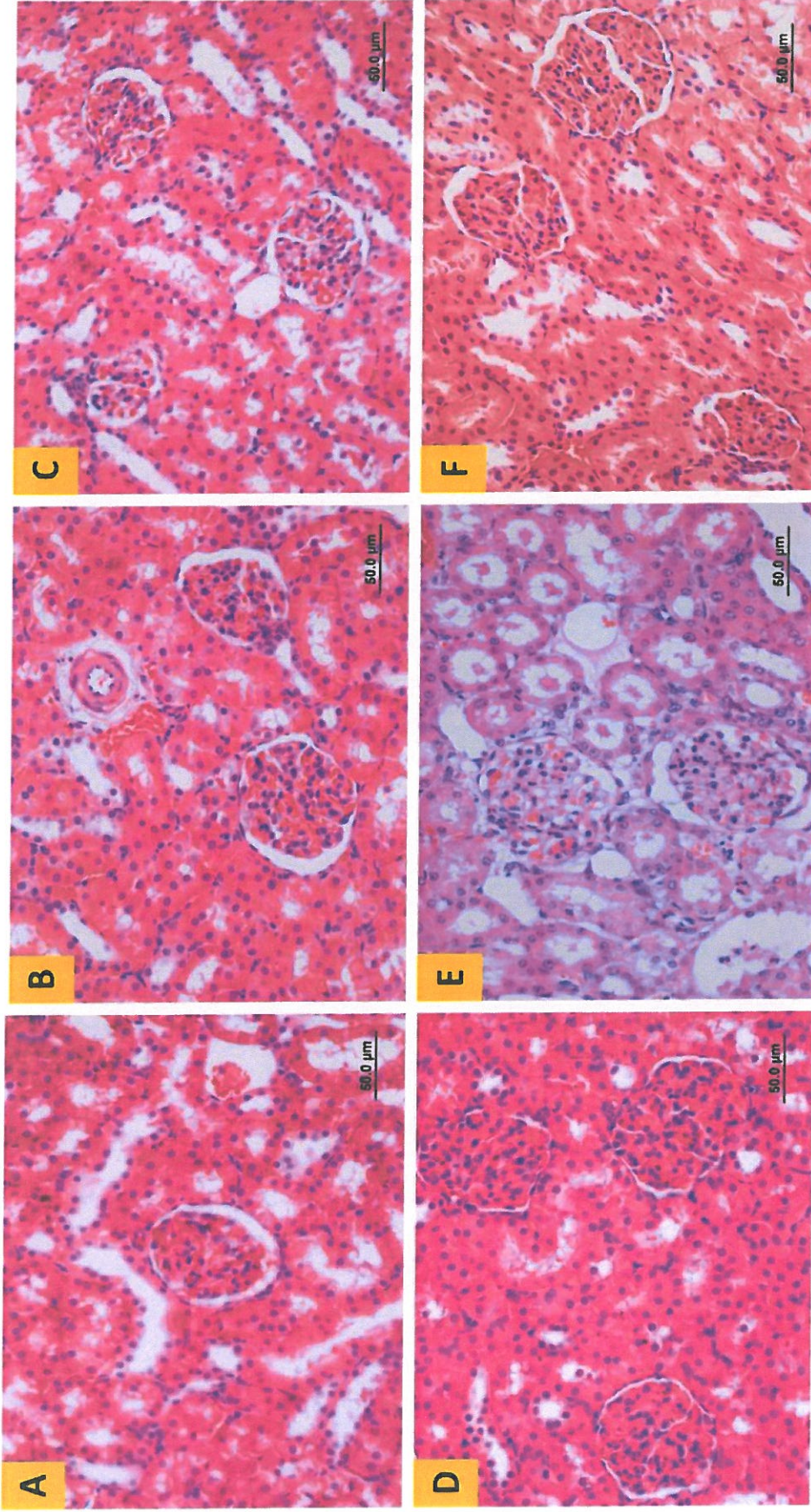
Gruplar arasındaki farklar ayrıca grafiksel olarak da gösterilmiştir (Şekil 4.9).



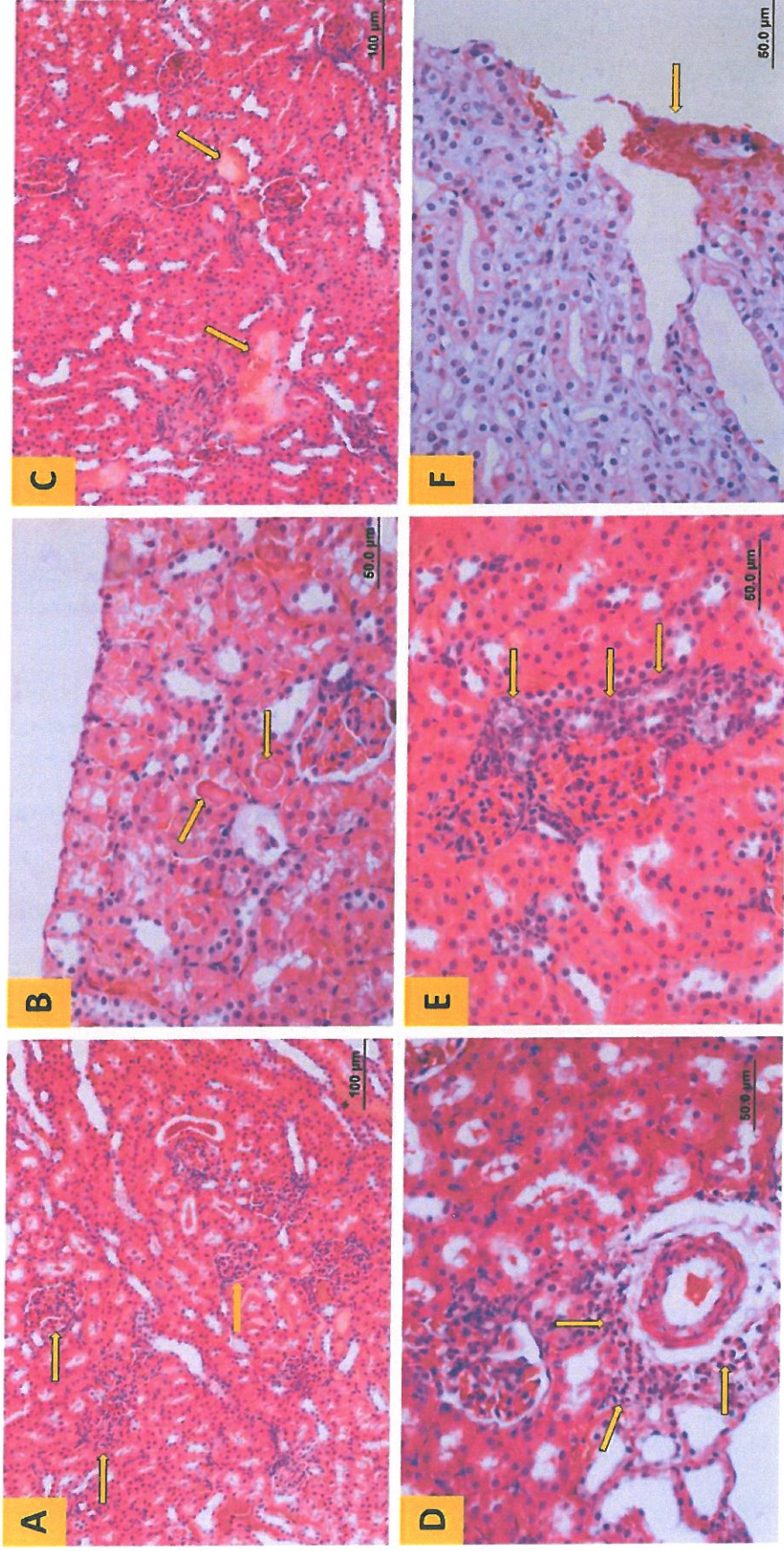
Şekil 4.9. Deney gruplarının OSİ değerleri

4.2. Histolojik Bulgular

Histolojik incelemesi yapılan böbrek dokularının tüm gruplara ait kesit örnekleri Şekil 4.10.'da gösterilmiştir. İnceleme sonuçlarına göre; kontrol grubu, 0.5 mg/kg selenyum dozunda veya 1 mg/kg selenyum verilen grupların böbrek dokularında tübül ve böbrek yapılarının normal yapıda oldukları görüldü. 150 mg/kg siklofosfamid verilen grupta küçük kanama ve iltihabi hücre odakları, genel olarak kan damarlarında konjesyon, Bowman kapsül aralıklarında daralma, glomerüllerde kompaktlaşma, tübüllerde hiyalin materyal birikimi ve tübül epitelinde yer yer ayrılmalar saptandı (Şekil 4.11). Siklofosfamid ile birlikte 0.5 mg/kg selenyum verilen grupta 150 mg/kg siklofosfamid verilen gruba kıyasla böbrek histolojisindeki bozuklukların azaldığı, ancak tam olarak önlenemediği görüldü (Şekil 4.11). Siklofosfamid ile birlikte 1 mg/kg dozunda selenyum eklenen gruba ait böbreklerde yapılan değerlendirmelerde ise bazı küçük bölgesel değişikliklere karşın histolojik yapının daha iyi korunduğu saptandı (Şekil 4.11).



Şekil 4.10. Tüm deney gruplarına ait böbreklerden alınmış mikroyraflar, H+E. **A:** Sadece serum fizyolojik verilen grupta, **B:** Sadece 0.5 mg/kg Se verilen grupta, **C:** Sadece 1 mg/kg Se verilen grupta normal histolojiye sahip böbrek kesitleri görülmektedir. **D:** Sadece 150 mg/kg CP verilen grupta Bowman kapsül aralıkları iyice daralmış ve glomerüllerini kompakt hale gelmiş olan böbrek cisimleri, **E:** CP'nin yanında 0.5 mg/kg Se verilen grupta tübüller içerisinde hiyalin materyalin birikimi, **F:** CP'nin yanında 1 mg/kg Se verilen grupta Bowman kapsül aralığındaki daralmanın azaldığı ve tübüllerdeki hiyalin materyalin genelde kaybolduğu görülmektedir.



Şekil 4.11. Sadece 150 mg/kg CP verilen gruba ait böbreklerden alınmış mikroyraflar, H+E. **A:** Bowman kapsül aralıkları iyice daralmış ve glomerüllerini kompaktlaşmış böbrek cisimleri (*oklar*), **B:** Tübüller içerisinde hiyalin materyal birikimi (*oklar*), **C:** Kan damarlarında konjesyon (*oklar*), **D:** Kan damarı çevresinde birikmiş iltihabi hücreler (*oklar*), **E:** Dejenerasyona uğramış tübül (*oklar*), **F:** Papillar bölgede kanama alanı (*ok*) olduğu görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Siklofosfamidin oksidan öncülü özelliği olduğu, oksidatif strese neden olarak antioksidan enzimlerin işlevlerini azalttığı ve hayati organlarda lipid peroksidasyonunu (LPO) artırdığı gösterilmiştir (Senthilkumar vd., 2006; Ayhanci vd., 2010; Ray vd., 2010; Abraham, Rabi, 2009; Song vd., 2014). Çalışmamızda selenyumun sıçanlarda siklofosfamid tarafından uyarılan oksidatif stres aracılı böbrek toksisitesine karşı potansiyel hücre koruyucu etkisi değerlendirildi.

Abraham ve Isaac (2011) tarafından sıçanlarda yapılan deneysel bir çalışmada 6, 12 ve 48 saat uygulanan tek doz siklofosfamidin (150 mg/kg) glomerulus bazal zarında incelme, birçok podositin bozulması, peroksizom artışı, nekroz, ödem ve lizozom azalışı gibi böbrek dokusunda histolojik değişikliklere neden olarak böbrek hasarına yol açtığı tespit edilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada (Okamura vd., 1992) erkek sıçanlara tek doz uygulanan siklofosfamidin (222 mg/kg) renal papiller nekroza neden olduğu bildirilmiştir. Daha sonraları siklofosfamidin nefrotoksositeye neden olduğuna dair bir kaç çalışma daha yapılmıştır. Bu çalışmaların tümünde uzun süreli siklofosfamid kullanımının renal tübüler nekroza, glomerular değişikliklere ve lizozomal enzim aktivitesinde anlamlı ölçüde düşüğe neden olarak böbrek hasarına yol açtığı rapor edilmiştir (Lavin, Koss, 1971; Abraham, Indirani & Sugumar, 2007). 10 günlük yüksek doz siklofosfamid uygulamasının ölümle bile sonuçlanabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Gharib, Burnett, 2002).

Siklofosfamidin akut böbrek hasarına neden olduğuna dair yapılan çalışma sayısı çok azdır. Yapılan bazı çalışmalarda 6, 12, 24 ve 48 saat sonra anestezi edilen sıçanlarda 150 mg/kg siklofosfamid uygulamasının böbrek dokusundaki hasarı çok fazla artırdığı kaydedilmiştir (Al Salloum, 2003; Senthilkumar vd., 2006; Ayhanci vd., 2009; Cayir vd., 2009). Bizim çalışmamızda da sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilen grupta 24 saat sonra böbrek dokusunda küçük kanama ve iltihabi hücre odakları, genel olarak kan damarlarında konjesyon, Bowman kapsül aralıklarında daralma, glomerüllerde kompaktlaşma, tübüllerde hiyalin materyal birikimi ve tübül epitelinde yer yer ayrılmalar saptandı. Siklofosfamid ile birlikte uygulanan selenyum dozlarının her ikisinde de böbrek histolojisindeki bozuklukların azaldığı görüldü (Şekil 4.11).

Oksidatif stresin içeriğini göstermek için bir biyobelirteç olarak kullanılan LPO, hücre zarının hasarlanmasına neden olarak hücre zarının akışkanlığını aşamalı olarak kaybetmesiyle sonuçlanır. Bu durum zar potansiyelinin azalmasına ve iyon geçirgenliğinin artmasına neden olur (Halliwell, 1991). Siklofosfamid uygulamasından sonra deney hayvanlarının farklı dokularında LPO'nun uyarıldığı rapor edilmiştir (Patel, 1987; Haque vd., 2003; Selvakumar vd., 2005). Siklofosfamid ve onun metaboliti olan akrolein mikrozomal enzimlerin inaktivasyonuna neden

olur ve bu da reaktif oksijen türlerinin üretimini artırması ve LPO ile sonuçlanır (Adams, Klaidman, 1993; Uchida, 1999). El-Demerdash ve Nasr (2014) LPO'da selenyumun etkisiyle ilgili yaptıkları çalışmada selenyumun (200 µg/kg) sıçan serumunda malondialdehid düzeyini azalttığını ve süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon-s-transferaz aktivitelerini artırdığını saptamışlardır. Pramita ve arkadaşları (2009) farelerde yaptıkları deneysel çalışmada 10 günlük CP (50 mg/kg) uygulamasından sonra gelişen karaciğer toksisitesine bağlı artan MDA düzeyini 3 mg/kg difenilmetil selenosiyanatın önemli oranda azalttığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda 150 mg/kg siklofosfamid uygulamasından 24 saat sonra LPO'nun son ürünü olan MDA önemli düzeyde arttı. Siklofosfamid ile birlikte selenyum (0.5 ve 1 mg/kg) ön uygulaması MDA düzeyini önemli oranda azalttı. Bu durum olasılıkla selenyumun serbest oksijen radikali giderici potansiyelinden kaynaklanmaktadır.

Glutatyon, hücre bütünlüğü ve metabolizmasının sürdürülmesi için en önemli moleküldür (Lue, Cederbaum, 2007). Glutatyon başlıca hücre içi enzimatik olmayan antioksidandır. Serbest oksijen radikalleri ve ksenobiyotikleri içeren toksik endojen ve eksojen maddeleri etkisiz hale getirebilir (Ali Osman, 1989). Siklofosfamid metabolizması yüksek reaktif elektrofilleri üretir ve glutatyonun düzeylerini düşürür. Bu durum olasılıkla yüksek elektrophilik yükten ve akrolein oluşumundan kaynaklanmaktadır (McDiarmid vd., 1991). Çalışmamızda 0.5 ve 1 mg/kg selenyum uygulaması elektrophilik yükleri (SOR'ları) azaltmış ve bu nedenle serum glutatyon düzeyleri artmış olabilir.

Glutatyon-s-transferaz (GST) yüksek reaktif elektrofiller ile glutatyonun bağlanmasını katalizler. Bu nedenle alkilleyici ajanların zararsız hale getirilmesinde büyük rol oynar (Touiliatos vd., 2000). Farelerde yapılan deneysel bir çalışmada siklofosfamid uygulamasının GST düzeyini önemli oranda düşürdüğü, ama selenyum uygulaması ile GST'nin hem karaciğer hem de akciğer dokusunda kontrol düzeylerine ulaştığı saptanmıştır. GST düzeyinin artması hücreleri toksik metabolitlerin etkisiz hale getirilmesiyle ilgili olarak daha güçlü yapar (Pramita vd., 2009). Bizim çalışmamızda da 150 mg/kg siklofosfamidin serum GSH düzeyini önemli oranda azalttığı belirlenmiş olup bu durum böbrek histolojisine de hasar olarak yansımıştır. Siklofosfamid ile birlikte selenyum ön uygulaması yapılan gruplarda serum GSH düzeyleri artmış ve böbrek dokusu histolojisi normal sınırlara ulaşmıştır. GSH düzeyinin yükselmesi olasılıkla GST aracılı zararsız hale getirme reaksiyonları için etkili bir şekilde tiyol gruplarını sağlayabilir.

Süperoksit dismutaz ve katalaz oksijenli solunum yapan tüm hücrelerde ve onların işlevlerinde süperoksit ve hidrojen peroksite potansiyel hasarlayıcı etkilerine karşı savunma sağlar. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini hidrojen peroksite parçalar ve bu da katalaz tarafından ortadan kaldırılır. Çalışmamızda siklofosfamid

uygulanan grupta serum süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesi önemli oranda düştü. Siklofosamid ile birlikte selenyum ön uygulaması süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerini önemli oranda artırdı. Birçok deneysel çalışmada selenyum uygulamasının antioksidan enzim düzeylerini artırdığı belirtilmiştir (Ayhanci vd., 2009; Pramita vd., 2009; Li vd., 2015; Qin vd., 2015). Deneysel çalışmamızda selenyumun her iki dozu tek başına uygulandığında hem antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı hem de LPO düzeylerini azalttığı belirlendi.

Böbrek işlev bozukluğunun erken belirlenmesi için önerilen laboratuvar belirteçlerinden biri sistatin C düzeyidir. Sistatin C böbrek tarafından atılmaz ve glomerular filtrasyon tamamlandıktan sonra kan akımına yeniden alınmaz. Bu parametre dış faktörler tarafından değiştirilemeyen ideale yakın endojen bir parametredir (Stabuc vd., 2000; Laterza, Price & Scott, 2002; Macisaac, Tsalamandris & Thomas, 2007). Stabuc ve arkadaşları (2000) ilk kez sisplatin uygulanan hastalarda serum sistatin C seviyesine bakmışlar ve serum kreatinin ile kıyaslandığında oldukça etkili sonuç verdiğini rapor etmişlerdir. Rasouli ve arkadaşları (2012) kanser hastalarında böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi için yaptıkları çalışmada serum sistatin C'nin erken dönem böbrek fonksiyon bozukluklarını belirlemede etkili bir parametre olduğunu bulmuşlardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, kreatinin ve sistatin C testlerinin birlikte uygulanması böbrek işlevlerini belirlemede daha etkili bir yol olarak düşünülmektedir (Carmen vd., 2011; Abraham, Isaac, 2011). Sıçanlarla yapılan bir çalışmada siklofosamidin düşük dozlarda (40 ve 50 mg/kg) plazma kreatinin seviyesine etki etmediği ve renal hasara neden olmadığı tespit edilmiştir (Sugumar, Kanakasabapathy & Abraham, 2007). Yapılan diğer bir çalışmada ise uzun süreli ve düşük dozlarda uygulanan siklofosamidin kreatinin seviyesine etki etmediği görülmüş ancak yapılan histolojik incelemelerde lizozomal enzim aktivitesinde anlamlı ölçüde düşüşe neden olarak renal toksisiteye (glomerular nefrit ve interstisyel ödem) yol açtığı ortaya konmuştur (Abraham, Isaac, 2011). Abraham ve Rabi (2011) tarafından yapılan çalışmada ise intraperitoneal olarak uygulanan 150 mg/kg siklofosamidin plazma kreatinin seviyesinde değişmeye neden olmadığı ancak histolojik incelemelerde renal hasara rastlandığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise 150 mg/kg siklofosamid uyguladığımız grupta hem serum kreatinin (%40) hem de sistatin C (%42) düzeylerinin artmış olması ($p < 0.001$) böbrek fonksiyonlarının incelenmesinde her iki parametrenin de göz önüne alınması gerektiği düşüncesini desteklemektedir.

Toplam oksidan seviyesi (TOS) ve toplam antioksidan seviye (TAS) parametreleri malondialdehid, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi tek tek antioksidan bileşikler ve oksidan bileşiklerin yerine dokularda ve serumda oksidan ve antioksidan dengelyi yansıtabilir. Oksidatif stres indeksi (OSİ) hücrelerde TOS ve TAS oranlarını yansıtan hücresel hasarla sonuçlanan serbest oksijen radikali salınımı tarafından karakterize edilen oksidan üretiminin artması veya antioksidan kapasitenin azalmasını gösterir (Erel,

2005). Çalışmamızda sadece siklofosfamid verilerek hasar oluşturulan grupta TOS ve OSİ değerleri önemli oranda artarken TAS değeri %12 oranında azalmıştır. Böbrek dokusundaki antioksidan aktivitesindeki bu azalma, oksidatif stresin arttığını gösterir. Siklofosfamid ile birlikte uygulanan selenyumun her iki dozunda da TAS değeri artmıştır (Tablo 4.3). Böbrekteki bu koruma büyük olasılıkla akroleinin neden olduğu serbest oksijen radikali artışının ve buna bağlı olarak gelişen böbrek hasarının selenyum varlığında antioksidan enzim aktivitelerinin artırılması ve serbest oksijen radikallerinin önemli ölçüde yok edilmesiyle açıklanabilir. Diğer taraftan 150+0.5 mg/kg CP+Se uygulanan grupta TAS değeri sadece siklofosfamid uygulanan gruba göre %34, 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubunda ise %60 oranında artmıştır ($p<0.001$). Bu sonuç, yüksek doz selenyumun böbrekte siklofosfamid toksisitesini önlemede daha etkili olduğunu göstermektedir.

Oldukça etkili antioksidan özellikleri olduğu bilinen selenyum beden için gerekli bir elementtir. Glutasyon peroksidaz ve tiyoredoksin redüktaz enzimlerinin yapısında bulunması nedeniyle, DNA ve diğer hücresel yapıları oksidatif hasara karşı korur. Hidrojen peroksiti metabolize eden ve antioksidan savunma sisteminin temeli olan glutasyon peroksidaz aktivitesi için gereklidir. Normal hücrelerin malin hücrelere dönüşmesini engelleyerek antimutajenik etki gösterir. Selenyumun, karsinogenezisin başlama ve ilerleme safhalarını baskıladığını ve hedef hücrelerde çoğalma hızını düşürdüğünü gösteren bulgular vardır (Hatfield vd., 2014). Selenyumun LPO'yu baskılayarak hücre zararını koruyucu etkisinin yanı sıra (Ilio vd., 1987), antioksidanlarla etkileşimi sayesinde kemoterapötik ajanlarla sinerjistik etkili olduğu (Dai vd., 1999) ve antineoplastik ilaçların terapötik etkinliğini artırdığı, sisplatin gibi sitotoksik ajanların toksik yan etkilerini azalttığı bildirilmiştir (Yang vd., 2000). Selenoproteinler, memelilerde tümör gelişiminin baskılanmasında rol alır. Bu etkiyi hücre döngüsünün redokslarını, büyümeyi teşvik eden transkripsiyon faktörlerini ve apoptozunu kontrol ederek yaparlar (Ramos vd., 2004). Selenyumun antikanser rolüne ek olarak, çeşitli ağır metallerin (Cd, Hb, Pb, Ar gibi) belirgin toksik etkilerine karşı dayanıklılık sağlama yeteneği tespit edilmiştir. Selenyumun kadmiyum ile birlikte uygulandığı deneysel bir çalışmada, kadmiyum tarafından karaciğer ve böbrekte oluşturulan hasar selenyum tarafından anlamlı bir şekilde azaltılmıştır (Khatab, 2007). Clayton ve Baumann, (1949) tarafından yapılan bir çalışmada p-aminoazobenzene maruz bırakılan sıçanlardaki tümörlerin selenyum ile anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir.

Böbrekte SOR kaynaklı toksisitelerin azaltılması için yapılan birçok çalışmada sodyumtiyosülfat, mesna ve procainamide gibi sülfür içeren birçok bileşiğin glutasyon düzeyini artırarak siklofosfamid toksisitesini azaltmada etkili olduğu ileri sürülmüştür. Ancak bu bileşikler etkinliklerinin yetersizliği yüzünden geniş klinik kullanımlar için onaylanmamaktadır. Bu bileşikler aynı zamanda tümör dokusunda alkilleyici ajanlar tarafından oluşturulan toksisiteye karşı sitoprotektivitede seçici değildir (Atessahin

vd., 2003; Senthilkumar vd., 2006; Ayhanci vd., 2010). Bu nedenle tümör koruyucu ve tümör büyümesini uyarıcı özellikler olmaksızın normal dokuları kemoterapi nedeniyle toksisitelerden koruyabilecek yeni ajanlara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuçlarımıza göre, 150 mg/kg siklofosfamid verilmesi sıçan böbreklerinde oksidatif strese neden olarak lipid peroksidasyonunu artırmış ve hasarlara neden olmuştur. Siklofosfamid ile birlikte verilen selenyumun her iki dozu da ortaya çıkan bu hasarları azaltmış, ancak 1 mg/kg selenyumun 0.5 mg/kg selenyuma göre siklofosfamid kaynaklı hasarları daha göze çarpan şekilde düzelttiği görülmüştür. Sonuçlarımız literatür bildirimleriyle uygunluk göstermekle birlikte bu konuda daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abraham, P., Indirani, K., & Sugumar, E. (2007). *Effect of cyclophosphamide treatment on selected lysosomal enzymes in the kidney of rats*. *Exp Toxicol Pathol*. 59:143-149.
- Abraham, P., Sugumar, E. (2008). *Enhanced PON1 activity in the kidneys of cyclophosphamide treated rats may play a protective role as an antioxidant against cyclophosphamide induced oxidative stress*. *Arch Toxicol*. 82: 237-238.
- Abraham, P., Rabi, S. (2009). *Nitrosative stress, protein tyrosine nitration, PARP activation and NAD depletion in the kidneys of rats after single dose of cyclophosphamide*. *Clin Exp Nephrol*. 13: 281-287.
- Abraham, P. (2011). *The effects of oral glutamine on cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in rats*. *Hum Exp Toxicol*. 30: 616-623.
- Abraham, P., Rabi, S. (2011). *Protective effect of aminoguanidine against cyclophosphamide-induced oxidative stress and renal damage in rats*. *Redox Report*, 16 (1).
- Abraham, P., 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*. 30: 1924.
- Adams, J.D., Klaidman, L.K. (1993). *Acrolein induced oxygen radical formation*. *Free Radic Biol Med*. 15: 187-193.
- Al-Gubory, K.H., Fowler, P.A., & Garrel, C. (2010). *The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes*. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 42;1634-1650.
- Allan, C.B., Lacourciere, G.M., & Stadtman, T.C. (1999). *Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium*. *Annu. Rev. Nutr*. 19;1-16.
- Al Salloum, A.A. (2003). *Cyclophosphamide therapy for lupus nephritis: poor renal survival in arab children*. *Pediatr Nephrol*. 18:357-361.
- Ali Osman, F. (1989). *Quenching of DNA cross-link precursors of chloroethylnitrosoureas and attenuation of DNA interstrand cross-linking by glutathione*. *Cancer Res*. 49: 5258-5261.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Anderson, M.E., Meister, A. (1998). *Glutathione moesters*. J. Anal. Biochem., 183:16-20.
- Atessahin, A., Karahan, I., Yilmaz, S., Ceribasi, A.O., & Pirincci, I. (2003). *The effect of manganese chloride on gentamicine-induced nephrotoxicity in rats*. Pharmacol Res. 48: 637-642.
- Ayhanci, A., Yaman, S., Appak, S., & Gunes, S. (2009). *Hematoprotective effect of seleno-l-methionine on cyclophosphamide toxicity in rats*. Drug and Chem. Tox. 32: 424-428.
- Ayhanci, 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. 136:171-179.
- Aycicek, A., Erel, O., & Kocyigit, A. (2005). *Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers*. Pediatr Int. 47:635-639.
- Balakrishnan, S.D., Anuradha, C.V. (1998). *Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation*. Cell Biochem Funct. 16:269-275.
- Bhatia, K., Ahmad, F., Rashid, H., & Raisuddin, S. (2008). *Protective effect of S-allylcysteine against cyclophosphamide-induced bladder hemorrhagic cystitis in mice*. Food Chem. Toxicol. 46:3368-3374.
- Banham, S., Dorward, A., Hutcheon, A., & Ahmedzai, S. (1985). *The role of vp-16 in the treatment of small-cell lung cancer group*. Seminars in Oncology. 1(2):2-6.
- Bernacki, R.J., Bansal, S.K., & Gurtoo, H.L. (1987). *Combination of mesna with cyclophosphamide or adriamycin in the treatment of mice with tumors*. Cancer Research. 47:799-802.
- Blum, J., Fridovich, I. (1985). *Inactivation of glutathione peroxide by superoxide radical*. Archives of Biochemistry and Biophysics. 240(2):500-508.
- Bokser, L., Szende, B., & Schally, A.V. (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.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Bramwell, V.C.H., Mourisden, H.I., & 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.
- Brock, N., Pohl, J., & Stekar, J. (1982). *Studies on the urotoxicity of oxazaphosphorine cytostatics and its prevention III. Profile of action of sodium 2- mercaptoethane sulfonate (mesna)*. Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 18(12):1377-87.
- Burk, R.F. (1990). *Protection against free radical injury by selenoenzymes*. Pharmac. Ther. 45:383-385.
- Büyükakyüz, N., Altuğ, T., & Yaltırık, M. (2000). *Kanser proflaksisinde antioksidan maddelerden E vitamini ve selenyumun onemi*. Dış Hekimliğinde Klinik Derg. 12:136-139.
- Cao, S., Durrani, F.A., & Rustum, Y.M. (2004). *Selective modulation of the therapeutic efficacy of anticancer drugs by selenium containing compounds against human tumor xenografts*. Clinical Cancer Research. 10:2561-2569.
- Carmen, A.P, Michael, G.S, Judd, S., Cushman, M., McClellan, W., Zakai, N.A., Safford, M.M., Zhang, X., Muntner, P., & Warnock, D. (2011). *Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin c, and urine albumin-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality*. JAMA. 305(15):1545-1552.
- Cayir, K., Karadeniz, A., Yildirim, A., Kalkan, K., Karakoc, A., Keles, M., & Tekin, S.B. (2009). *Protective effect of l-carnitine against cisplatin-induced liver and kidney oxidant injury in rats*. Cent. Eur. J. Med. 4(2):184-191.
- Clayton, C.C., Bauman, C.A. (1949). *Diet and azo dye tumors: effect of diet during a period when the dye is not fed*. Cancer Research. 9(10).
- Cnubben, N.H.P., Rietjens, I.M.C.M., Wortelboer, H., Zanden, J., & Bladeren, P.J. (2001). *The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense*. Environmental Toxicology and Pharmacology. 10:141-152.
- Combs, G.F., Gray, W.P. (1998). *Chemopreventive agents: selenium*. pharmacology therapeutics. 79:179-192.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Dai, J., Weinberg, R.S., Waxman, S., & Jing, Y. (1999). *Malignant cells can be sensitized to undergo growth inhibition and apoptosis by arsenic trioxide through modulation of the glutathione redox system.* Blood. 93(1);268-277.
- De Jonge, M.J.A., Verweij, J. (2006). *Renal toxicities of chemotherapy.* Semin Oncol. 33:68-73.
- Dodig, S., Cepelak, I. (2004). *The facts and controversies about selenium.* Acta Pharm. 54(4):261-76.
- Dongbo, S., Chunqiu, L., Jing, G., Shu, L., & Hongbin, W. (2015). *Effects of selenium deficiency on principal indexes of chicken kidney function.* Biol Trace Elem Res. 164:58-63.
- El-Demerdash, F.M., Nasr, H.M. (2014). *Antioxidant effect of selenium on lipid peroxidation, hyperlipidemia and biochemical parameters in rats exposed to diazinon.* Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 28:89-93.
- Erel, O. (2004). *A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions.* J. Clinical Biochemistry. 37:112-9.
- Erel, O. (2005). *A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status.* Clin. Biochem. 38:1103-1111.
- Fouladi, M., Stempak, D., & Gammon, J. (2011). *Phase I trial of a twice-daily regimen of amifostine with ifosfamide, carboplatin and etoposide chemotherapy in children with refractory carcinoma.* Cancer. 92:914-23.
- Fraiser, L.H., Kanekal, S., & Kehrer, J.P. (1991). *Cyclophosphamide toxicity. Characterising and avoiding the problem.* Drugs. 42:781-95.
- Gebre-Medhin, M., Ewald, U., & Platin, L. (1984). *Elevated serum selenium in diabetic children.* Acta Pediatr Scand. 73:109-114.
- Gharib, M.I., Burnett, A.K. (2002). *Chemotherapy induced cardiotoxicity: current practise and prospects of prophylaxis.* Eur. J. Heart Fail. 4:235-42.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Ghiselli, A., Serafini, M., & Natella, F. (2000). *Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status. Critical view and experimental data.* Free Radic. Biol. Med. 29(11):1106-14.
- Gilman, A.G., Goodman, L.S., & Rall, T.W. (1985). *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 7th ed.* New York: 674-715.
- Glode, M., Robinson, J., & Gould, F.S. (1981). *Protection from cyclophosphamide-induced testicular damage with an analogue of gonadotropin-releasing hormone.* The Lancet. May 23, 1132-1136.
- Griffin, A.C., Lane, H.W. (1981). *Selenium chemoprevention of cancer in animals and human implications.* Selenium in Biology and Medicine. 14:160-170.
- Groff, J.L., Gropper, S.S., & Hunt, S.M. (1995). *Microminerals in advanced nutrition and human metabolism.* Minneapolis. 381-384.
- Haan, J.B., Bladier, C., Griffith, P., Keiner, M., O'shea, R.D., & Kola, I. (1998). *Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide.* Issue of August. 273(35):22528-22536.
- Halliwell, B. (1991). *Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease.* The American Journal of Medicine. 91:3.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1990). *The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases.* Methods in Enzymology. Academic Press, New York. 186:1-85.
- Hampton, M., Kettle, A.J., & Winterbourn, C.C. (1998). *Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing.* Blood. 92:3007-3017.
- Hamsa, T.P., Kuttan, G. (2011). *Protective role of Ipomoea obscura (L.) on cyclophosphamide-induced uro- and nephrotoxicities by modulating antioxidant status and pro-inflammatory cytokine levels.* Inflammopharmacol. 19:155-167.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Haque, R., Bin-Hafeez, B., Parvez, S., Pandey, S., Sayeed, I., Ali, M., & Raisuddin, S. (2003). *Aqueous extract of walnut (Juglans regia L.) protects mice against cyclophosphamide-induced biochemical toxicity.* Hum Exp Toxicol. 22:473-480.
- Hatfield, D.L., Tsuji, P.A., Carlson, B.A., & Gladyshev, V.N. (2014). *Selenium and selenocysteine: roles in cancer, health, and development.* Trends Biochem Sci. 39(3):112-120.
- Heinegard, D., & Tiderström, G. (1973). *Determination of serum creatinine by a direct colorimetric method.* Clin Chim Acta. 43:305-310.
- Hussein, A.M. (1995). *Protection against cytosine arabinoside-induced alopecia by minoxidil in a rat animal model.* Int. J. Dermatol. 34(7):470-473.
- Ilio, C.D., Boccio, G.D., Casaccia, R., Aceto, A., Giacomo, F.D., & Federici, G. (1987). *Selenium level and glutathione- dependent enzyme activities in normal and neoplastic human lung tissues.* Carcinogenesis. 8(2); 281-284.
- Jenkins, R. (2000). *Exercise and oxidative stress methodology: a critique.* Am. J. Clin. Nutr. 7 (2):670-674.
- Khattab, F.K.I. (2007). *Effects of sodium selenite on the ultrastructure of the kidney cortex in normal rats.* Journal of Applied Sciences Research. 3(9):803-810.
- Kalender, S., Kalender, Y., Ogutcu, A., Uzunhisarcıklı, M., Durak, D., & Acikgoz, F. (2002). *Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E.* Toxicology. 202:227-235.
- Kayaalp, S.O. (1998). *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 1. cilt (8. Baskı).* Ankara: Feryal Matbaacılık.
- Kawabata, T.T., Chapman, M.Y., Kim, D.H., Stevens, W.D., & Holsapple, M.P. (1990). *Mechanism of in vitro immunosuppression by hepatocyte generated cyclophosphamide metabolites and 4-hydroxycyclophosphamide.* Biochemical Pharmacology. 40(5):927-935.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Kennedy, G., Groepper, D., Tagen, M., Christensen, R., Navid, F., & Gajjar, A. (2010). *Stability of cyclophosphamide in extemporaneous oral suspensions*. *Ann Pharmacother*. 44:295-301.
- Kieliszek, M., Błazejak, S., & Jedrzejczak, R. (2012). *The capacity for binding selenium by fodder yeast strain *Candida utilis* ATCC 9950*. *Bromat Chem Tox*. 45:628-33.
- Kim, S.H., Lee, C.I., Lim, H.J., Moon, C., Bae, S.C., & Kim, H.S. (2012). *Protective effects of pine bark extract on developmental toxicity of cyclophosphamide in rats*. *Food Chem. Toxicol*. 50:109-115.
- Kim, Y.Y., Mahan, D.C. (2003). *Biological aspects of selenium in farm animals*. *Asian Aust. J Anim Sci*. 16:435-44.
- Knapen, M.F.C.M., Zusterzeel, P.L.M., Peters, W.H.M., & Steegers, E.A.P. (1999). *Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction*. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 82:171-184.
- Kopani, M., Celec, P., Danisovic, L., Michalka, P., & Biro, C. (2006). *Oxidative stress and electron spin resonance*. *Clin Chim Acta*. 364:61-66.
- 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.
- Kwon, H.C., Borch, R.F., Engel, J., & Niemeyer, U. (1987). *Activation mechanism of ifosfamide and the role of thiols in cyclophosphamide metabolism*. *J. Medchem*. 30:395-399.
- Laterza, O.F., Price, C.P., & Scott, M.G. (2002). *Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate*. *Clin Chem*. 48:699-707.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Lavin, P., Koss, L.C. (1971). *Effects of a single dose of cyclophosphamide on various organs in the rat. IV. Electron microscopic study of the renal tubules.* Am. J. Pathol. 62:169-180.
- Li, S.C., Gao, J., Li, S., & Wang, H. (2015). *Effects of selenium deficiency on principal indexes of chicken kidney function.* Biol Trace Elem Res. 164:58-63.
- Lu, Y., Cederbaum, A. (2007). *The mode of cisplatin-induced cell death in CYP2E1-overexpressing HepG2 cells: modulation by ERK, ROS, glutathione, and thioredoxin.* Free Radic Biol Med. 43:1061-1075.
- Macisaac, R.J., Tsalamandris, C., & Thomas, M.C. (2007). *The accuracy of cystatin c and commonly used creatinine-based methods for detecting moderate and mild chronic kidney disease in diabetes.* Diabet Med. 24:443-448.
- Masuda, H., Chancellor, M.B., Kihara, K., & Yoshimura, N. (2006). *15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2 attenuates development of cyclophosphamide-induced cystitis in rats.* Urology. 67:435.
- McCord, J. (1993). *Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance.* Clin Biochem. 26:351-357.
- McDiarmid, M.A., Iype, P.T., Koldner, K., Jacobson, K.D., & Strickland, P.T. (1991). *Evidence for acrolein-modified DNA in peripheral blood leucocytes of cancer patients treated with cyclophosphamide.* Mutat Res. 248:93-99.
- Mena, P., Maynar, M., Gutierrez, J.M., Maynar, J., Timon, J., & Campillo, J.E. (1991). *Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers, adaptation to training.* Int. J. Sports Med. 12(6):563-566.
- Miller, L.J., Chandler, S.W., & Ippoliti, C.M. (1994). *Treatment of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis with prostaglandins.* Ann Pharmacother. 28:590-594.
- Milner, J.A., Hsu, C.Y. (1981). *Inhibitory effects of selenium on the growth of L1210 leukemic cells.* Cancer Research. 41:1652-1656.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Ohno, Y., Ormstad, K. (1985). *Formation, toxicity and inactivation of acrolein during biotransformation of cyclophosphamide as studied in freshly isolated cells from rat liver and kidney*. Arch Toxicol. 57:99-103.
- Okamura, T., Garland, E.M., Taylor, R.J., Johansson, S.L., & Cohen, S.M. (1992). *The effect of cyclophosphamide administration on the kidney of the rat*. Toxicol Lett. 63(3):261-76.
- Ozyazgan, Y., Yurdakul, S., Yazıcı, S., & Tuzun, B. (1992). *Low dose cylosporin a versus pulsed cyclophosphamide in Behçet’s syndrome: a single masked trial*. British Journal of Ophthalmology. 76(4):241-243.
- Özkan, A., Fışkın, K. (2004). *Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler*. Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi. 14:52-60.
- Parlakınar, H., Örum, M.H., Acet, A. (2012). *Kafeik asit fenetil ester (KAPE) ve miyokardiyal iskemi reperfüzyon (Mİ/R) hasarı*. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 1:10-5.
- Patel, J.M. (1987). *Stimulation of cyclophosphamide-induced pulmonary microsomal lipid peroxidation by oxygen*. Toxicol. 45:79-91.
- Perini, P., Calabrese, M., Rinaldi, L., & Gallo, P. (2007). *The safety profile of cyclophosphamide in multiple sclerosis therapy*. Expert Opin Drug Saf. 6:183-190.
- Pool, B.L., Bos, R.P., Niemeyer, U., Theuws, J.L.G., & 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.
- Porter, N.A. (1984). *Chemistry of lipid peroxidation*. Methods Enzymol. 105:273-283.
- Powers, S.K., Ji, L.L., & Leeuwenburgh, C. (1999). *Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review*. Medicine & Science in Sports & Exercise. 31(7):987-997.
- Pramita, C., Ugir, H.S., Nabendu, M., Jayanta, K.D., Smarajit, P., & Sudin, B. (2009). *Modulation of cyclophosphamide-induced cellular toxicity by diphenylmethyl selenocyanate in vivo, an enzymatic study*. Journal of Cancer Molecules. 4(6):183-189.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Qin, S., Huang, B., Ma, J., Wang, X., Zhang, J., Li, L., & Chen, F. (2015). *Effects of selenium-chitosan on blood selenium concentration, antioxidation status, and cellular and humoral immunity in mice*. Biol Trace Elem Res. 165:145-152.
- Ramos, A., Lane, A.N., Hollingworth, D., Fan T.W.M. (2004). *Secondary structure and stability of the selenocysteine insertion sequences (SECIS) for human thioredoxin reductase and glutathione peroxidase*. Nucleic Acids Research. 32(5):1746-1755.
- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J., & Henderson, G. (2012). *Rang, and Dale's pharmacology*. New York. 673-688.
- Rasouli, H.A., Moghadam, M.M., Tabatabaiefar, M., Taslimi, F., Sheybani, K.M., Alidoosti, A., Ameri, A., Fadavi, P., & Aref, S. (2012). *Comparing cystatin c changes as a measure of renal function before and after radiotherapy in patients with stomach cancer*. Acta Med. 50(1):43-46.
- Ray, S., Pandit, B., Ray, S.D., Das, S., & Chakraborty, S. (2010). *Cyclophosphamide induced lipid peroxidation and changes in cholesterol content: protective role of reduced glutathione*. 1. Int J Pharm Tech Res. 2:704-718.
- Rayman, M.P. (2000). *The importance of selenium to human health*. Lancet. 356:233-41.
- Reed, E., Ozols, R.F., & Tarone, R. (1987). *Platinum-DNA adducts in leucocyte DNA correlate with disease response in ovarian cancer patients receiving platinum -based chemotherapy*. Proc. Natl. Acad. Sci. 84;5024.
- Reid, M. (2001). *Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle. Invited review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't*. J. Appl. Physiol. 90:724-731.
- Sakthivel, K.M., Guruvayoorappan, C. (2014). *Acacia ferruginea inhibits cyclophosphamide-induced immunosuppression and urotoxicity by modulating cytokines in mice*. Journal of Immunotoxicology. 29:1-10.
- Selvakumar, E., Prahalathan, C., Mythili, Y., & Varalakshmi, P. (2005). *Mitigation of oxidative stress in cyclophosphamide-challenged hepatic tissue by DL-alpha-lipoic-acid*. Mol Cell Biochem. 272:179-185.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Sen, C. (2001). *Antioxidant and redox regulation of cellular signaling:introduction*. Med. Sci. Sports Exerc. 33:368-370.
- Senthilkumar, S., Devaki, T., Manohar, B.M., & Babu, M.S. (2006). *Effect of squalene on cyclophosphamide-induced toxicity*. Clin. Chim. Acta. 364: 335-42.
- Schrauzer, G.N. (1976). *Selenium and cancer: a review*. Bioinorganic Chemistry. 5: 275-281.
- Shapiro, J.R. (1972). *Selenium and carcinogenesis: a review*. Annals of the New York Academy of Science. 192:215-219.
- Shaw, P.J., Blekley, M. (2000). *Systemic inflammatory response syndrome associated with amifostine*. Med. Pediatr. Oncol. 34:309-10.
- Shamberger, R.J. (1969). *Possible protective effect of selenium against human cancer*. Can. Med. Assoc J. 100(14): 682.
- Song, J., Liu, L., Li, L., Liu, J., Song, E., & Song, Y. (2014). *Protective effects of lipoic acid and mesna on cyclophosphamide induced haemorrhagic cystitis in mice*. Cell Biochem Funct. 32: 125-132.
- Szabo, C. (1996). *The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury*. Shock. 6:79.
- Smith, E.L., Hill, R.L., & Lehmal, R. (1983). *Principle of biochemistry*. McBraw Hill. 382-383.
- Southorn, P.A., Powis, G. (1998). *Free radicals in medicine. 1. Chemical nature and biologic reactions*. Mayo Clin. Proc. 63:381-389.
- Stabuc, B., Vrhovec, L., Stabuc-Silih, M., & Cizej, T.E. (2000). *Improved prediction of decreased creatinine clearance by serum C: use in cancer patients before and during chemotherapy*. Clin Chem. 46:193-197.
- Sugumar, E., Kanakasabapathy, I., & Abraham, P. (2007). *Normal plasma creatinine level despite histological evidence of damage and increased oxidative stress in the kidneys of cyclophosphamide treated rats*. Clin Chim Acta. 376:244-5.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Tarpey, M.M., Wink, D.A., & Grisham, M.B. (2004). *Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 286(3):431-44.
- Thatcher, N., Smith, D.B., Lind, M.J., Anderson, H., Barclay, J., Chopra, M.P., & Fitzgerald, M.D. (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.
- Theocharis, S.E., Margeli, A.P., Skaltsas, S.D., Spiliopoulou, C.A., & Koutselini, S. (2001). *Induction of metallothionein in the liver of carbon tetrachloride intoxicated rats: an immunohistochemical study*. Toxicology. 161:129-138.
- Tran, P.A., Sarin, L., Hurt, R.H., & Webster, T.J. (2010). *Differential effects of nanoselenium doping on healthy and cancerous osteoblasts in coculture on titanium*. Int J Nanomedicine. 5:351-8.
- Touliatos, J.S., Neitzel, L., Whitworth, C., Rybak, L.P., & Malafa, M. (2000). *Effect of cisplatin on the expression of glutathione-S-transferase in the cochlea of the rat*. Eur Arch Otorhinolaryngol. 25:6-9.
- Uchida, K. (1999). *Current status of acrolein as a lipid product*. Trends Cardiovasc Med. 109-113.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*. Chem Biol Interact. 160(1):1-40.
- West, N.J. (1997). *Prevention and treatment of hemorrhagic cystitis*. Pharmacotherapy. 17(4): 696-706.
- Yalçın, A.S. (1998). *Antioksidanlar*. Klinik Gelişim. 11:342-6.
- Yagi, K. (1994). *Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine*. In: Armstrong D, editor. *Free Radicals in Diagnostic Medicine*. New York: Plenum Press. p. 1-15.

"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"

- Yang, Z., Faustino, P.J., Andrews, P.A., Monastra, R., Rasmussen, A.A., Ellison, C.D., & Cullen, K.J., (2000). *Decreased cisplatin/DNA adduct formation is associated with cisplatin resistance in human and neck cancer cells lines, cancer chemotherapy*. Pharmacol. 46: 255-262.
- Yao, J.K.R., Reddy, L.G., & McElhinny, R. (1998). *Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia*. Schizophr Res. 32(1):1-8.
- Yousefipour, Z., Ranganna, K., Newaz, M.A., & Milton, S.G. (2005). *Mechanism of acrolein-induced vascular toxicity*. J Physiol Pharmacol. 56:337-353.

Özgeçmiş

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Sibel Güneş
Doğum yeri : Ankara
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri :Üniversite Evleri Şafak Apt. K:5 D: 21
Eskişehir

Eğitim Durumu

Lisans : ESOGÜ Biyoloji Bölümü
(2002-2007)
Yüksek Lisans : ESOGÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji ABD
(2007-2009)
Doktora : ESOGÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji ABD
(2009-2012)

Yabancı diller: İngilizce.

Mesleki Deneyim : ESOGÜ Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek
Okulu, Öğretim Görevlisi (2013-...)

Yayınlar

A: Yurt Dışı (SCI-expanded, SSCI, AHCI kapsamındaki) Dergilerde
Yayımlanan Yayınları:

1. Ayhanci A, Yaman S, Appak S, and Gunes S. "Hematoprotective effect of seleno-L-methionine on cyclophosphamide toxicity in rats". Drug and Chemical Toxicology, 2009; 32(4): 424-428.
2. Ayhanci A, Yaman S, Sahinturk V, Uyar R, Bayramoglu G, Senturk H, Altuner Y, Appak S, Gunes S. "Protective effect of seleno-L-methionine on cyclophosphamide-induced urinary bladder toxicity in rats". Biol Trace Elem Res. 2010;134:98-108.
3. Ayhanci A, Gunes S, Sahinturk V, Appak S, Uyar R, Cengiz M, Altuner Y, Yaman S. "Seleno L-Methionine acts on cyclophosphamide-induced kidney toxicity". Biol Trace Elem Res. 2010;136:171-179.

B: Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1. Ayhanci A, Acar O, Sahinturk V, Mentese A, Gunes S, Sahin I.K, Musmul A, Uslu S. "Protective effect of selenium on cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats". The 15 th International Congress of the International Society for Ethnopharmacology, May, 5-8, 2015, Petra-Jordan.(Bildiri)
2. Cetik S., Ayhanci A., Sahinturk V., Uslu S., Sahin K.I., Ertekin R., Gunes S., Musmul A., Mentese A. "Protective effects of carvacrol on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats" 17th World Congress of Basic&Clinical Pharmacology. Cape Town, South Africa, 7 August 2014. (Bildiri)
3. Cengiz M, Kutlu HM, Ertekin R, Demirkaya M, Gunes S, Cetik S, Tekin Y, Sahin IK, Baser HC, Ayhanci A. "The effects of cyclophosphamide-induced oxidative liver damage in rats". Nederlandse Vereniging voor Microscopie 2011 Materials Science Meeting. P: 26, 10th of November. Eindhoven University of Technology, Nederland (Bildiri).
4. Ayhanci A, Sahinturk V., Burukoglu D., Uyar R., Baser K.H.C., Altuner Y., Uslu S., Sahin I.K., Musmul A., Cengiz M., Ertekin R., Cetik S., Demirkaya M., Tekin Y., Gunes S. "Protective effect of carvacrol on cyclophosphamide-induced urinary bladder toxicity in rats". Cell & Tissue Biology Research. Special Issue Includes Abstracts of the 11th National Histology and Embryology Congress with International Contribution 16-19 May 2012 Pamukkale University, Denizli/Turkey. (Bildiri)
5. Ayhanci A, Tekin Y, Uyar R, Sahinturk V, Musmul A, Ertekin R, Gunes S, Cetik S, Eyiis E, Demirkaya M, Piyale M, Demirbas B, Bigetekin Y, Can I "Protective effect of carvacrol in cyclophosphamide induced oxidative injury in rat testis" The American Society for Cell Biology. December 15-19, 2012, San Francisco, CA, USA. (Bildiri)

C: Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1. Adnan Ayhancı, Mustafa Cengiz, Bilge Özkal, Sibel Güneş, Zeynep Önalı, Yılmaz Altuner, Gökhan Bayramoğlu, Hakan Şentürk. "Deneyssel kolit nedenli karaciğer hasarında likopenin koruyucu etkileri". Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi. S: 46, 14-17 Eylül 2010, Trakya Üniversitesi Balkan Kongre Merkezi, Edirne (Bildiri).
2. Mustafa Cengiz, Bilge Özkal, Sibel Güneş, Zeynep Önalı, Yılmaz Altuner, Songül Çetik, Adnan Ayhancı, Gökhan Bayramoğlu, Hakan Şentürk. "İnflamatuvar barsak hastalığında likopenin hematoprotektif etkileri". Fizyolojik Bilimler Derneği 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi. S: 123, 14-17 Eylül 2010, Trakya Üniversitesi Balkan Kongre Merkezi, Edirne (Poster).

3. M. Yağış Piyale, Varol Şahintürk, Ruhi Uyar, Yılmaz Altuner, İlknur Kulcanay Şahin, Mustafa Cengiz, Suzan Yaman, Rıfat Ertekin, Songül Çetik, Mürvet Demirkaya, Yasemin Tekin, Sibel Güneş, Adnan Ayhancı. "Antikanser tedavide karvakrolün hematoprotektif etkileri". 21. Ulusal Biyoloji Kongresi. 3-4 Eylül 2012, Ege Üniversitesi, İzmir (Bildiri).
4. Songül Çetik, Varol Şahintürk, Ruhi Uyar, K.H. Can Başer, Betül Peker Cengiz, Yılmaz Altuner, Suzan Yaman, Sema Uslu, İlknur Kulcanay Şahin, Mustafa Cengiz, Rıfat Ertekin, Mürvet Demirkaya, Yasemin Tekin, Sibel Güneş, Adnan Ayhancı. "Karvakrol sitotoksik ilaçların toksisitesini önleyebilir mi?" 21. Ulusal Biyoloji Kongresi. 3-4 Eylül 2012, Ege Üniversitesi, İzmir (Poster).
5. Sibel Güneş, Adnan Ayhancı, Varol Şahintürk, Ahmet Mentеше, Ruhi Uyar, Ahmet Musmul, İlknur Kulcanay Şahin, Rıfat Ertekin, Mürvet Demirkaya, Songül Çetik, Mustafa Cengiz, Maşude Yağış Piyale. "Sıçanlarda siklofosfamid nedenli oksidatif stres ve böbrek hasarına karşı karvakrolün koruyucu etkisi" Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi. 25-29 Eylül 2012, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon (Poster).
6. Mürvet Demirkaya, Adnan Ayhancı, Varol Şahintürk, Ahmet Mentеше, Ruhi Uyar, Ahmet Musmul, İlknur Kulcanay Şahin, Rıfat Ertekin, Sibel Güneş, Songül Çetik, Mustafa Cengiz, Yasemin Tekin. "Siklofosfamid nedenli oksidatif hepatik hasar üzerine karvakrolün iyileştirici etkileri" Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi. 25-29 Eylül 2012, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon (Poster).
7. Adnan Ayhancı, Ruhi Uyar, Varol Şahintürk, Sema Uslu, Ahmet Mentеше, Ahmet Musmul, İlknur Kulcanay Şahin, Sıla Appak, Sibel Güneş "Siklofosfamid nedenli miyelosupresyonda selenyumun koruyucu etkisi" 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014, Erciyes Üniversitesi Sabancı Kültür Merkezi (Poster).

Bilimsel Etkinlikler

Projeler:

1. Adnan Ayhancı, Ruhi Uyar, Varol Şahintürk, Sema Uslu, Ahmet Mentеше, Ahmet Musmul, Sıla Appak, Sibel Güneş "Siklofosfamid nedenli doku hasarı ve oksidatif stres üzerine selenyumun etkisi" T.C. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu, Proje No: 2014-254, 14.01.2014, Eskişehir.