

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**PATOLOJİ (VETERİNER) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**RATLARDA DENEYSEL SİKLOFOSFAMİD**  
**TOKSİKASYONUNDA SODYUM SELENİT'İN KARACİĞER**  
**VE BÖBREKTE METALLOTİYONİN EKSPRESYONU**  
**ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**MEHMET KARABOĞA**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**DOÇ. DR. HAMDİ AVCI**



Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-17028 numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2018**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Patoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Mehmet KARABOĞA tarafından hazırlanan “**Ratlarda Deneysel Siklofosamid Toksikasyonunda Sodyum Selenit’in Karaciğer ve Böbrekte Metalotiyonin Ekspresyonu Üzerine Etkisinin Araştırılması**” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/12/2018

| Ünvanı, Adı Soyadı:              | Üniversite                        | İmza:   |
|----------------------------------|-----------------------------------|---|
| 1-Prof. Dr. S. Serap BİRİNCİOĞLU | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi |  |
| 2-Doç. Dr. Funda YILDIRIM        | İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa |  |
| 3-Doç. Dr. Hamdi AVCI            | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi |  |

### ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan .....nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım esnasında deneyim ve bilgilerini benden esirgemeyip her zaman destek olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Hamdi AVCI'ya sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. S. Serap BİRİNCİOĞLU'na, Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Nihat TOPLU'ya, Prof. Dr. Recai TUNCA'ya, Prof. Dr. řule Yurdaęül ÖZSOY'a ve Dr. Öğ. Üyesi E. Tuęrul EPİKMEN'e çok teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarım esnasında her daim yanımda olan Arař. Gör. Dr. Emrah İPEK'e, Arař. Gör. Ayře Nur AKKOÇ'a, Arař. Gör. Göksel DOĐAN'a ve Cihan şAHİN'e teşekkür ederim. Bugünlere gelmemi sağlayan sevgili babam Ali KARABOĞA ve sevgili annem Emine KARABOĞA'ya, hayat yolculuğumda her zaman yanımda olan sevgili eřim Hilal KARABOĞA'ya tüm kalbimle teşekkür ederim.

Son olarak çalışmamızı desteklediği için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|   |      |
|---|------|
| KABUL ONAY.....                           | i    |
| TEŞEKKÜR.....                             | ii   |
| İÇİNDEKİLER .....                         | iii  |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....       | iv   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                      | v    |
| RESİMLER DİZİNİ.....                      | vi   |
| TABLolar DİZİNİ.....                      | vii  |
| Çizelgeler.....                           | viii |
| ÖZET.....                                 | ix   |
| ABSTRACT.....                             | xi   |
| 1. GİRİŞ.....                             | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                    | 2    |
| 2.1. Siklofosfamid.....                   | 3    |
| 2.2. Selenyum.....                        | 7    |
| 2.3. Metalloiyoninler.....                | 9    |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                   | 12   |
| 3.1. Kullanılan İlaç ve Antioksidan ..... | 12   |
| 3.2. Deney Hayvanları.....                | 12   |
| 3.3. Deney Dizaynı.....                   | 13   |
| 3.4. Patolojik İnceleme.....              | 14   |
| 3.5. İmmunohistokimyasal İnceleme.....    | 14   |
| 3.6. İstatiksel İnceleme.....             | 15   |
| 4. BULGULAR.....                          | 16   |
| 4.1. Klinik Bulgular.....                 | 16   |
| 4.2. Patolojik Bulgular.....              | 18   |
| 4.2.1. Makroskopik Bulgular.....          | 18   |
| 4.2.2. Mikroskopik Bulgular.....          | 18   |
| 4.2.3. İmmunohistokimyasal Bulgular.....  | 28   |
| 5. TARTIŞMA.....                          | 32   |
| 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....              | 36   |
| KAYNAKLAR.....                            | 37   |
| ÖZGEÇMİŞ.....                             | 48   |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|             |                            |
|-------------|----------------------------|
| <b>ACR</b>  | : Akrolein                 |
| <b>AO</b>   | : Antioksidan              |
| <b>CP</b>   | : Siklofosfamid            |
| <b>DMSe</b> | : Dimetil Selenid          |
| <b>DNA</b>  | : Deoksiribo Nükleik Asit  |
| <b>eNOS</b> | : Endotelyal NOS           |
| <b>FAM</b>  | : Fosforamid Mustard       |
| <b>GSH</b>  | : İndirgenmiş Glutasyon    |
| <b>İHK</b>  | : İmmunohistokimyasal      |
| <b>iNOS</b> | : İndüklenebilir NOS       |
| <b>MT</b>   | : Metalloiyonin            |
| <b>nNOS</b> | : Nöronal NOS              |
| <b>NOS</b>  | : Nitrik Oksit Sentaz      |
| <b>RNA</b>  | : Ribo Nükleik Asit        |
| <b>Se</b>   | : Selenyum                 |
| <b>Ss</b>   | : Standart Sapma           |
| <b>SOD</b>  | : Süperoksit Dismutaz      |
| <b>SOR</b>  | : Serbest Oksijen Radikali |
| <b>TMSe</b> | : Trimetilselenyum         |
| <b>WHO</b>  | : Dünya Sağlık Örgütü      |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                 |  |   |
|-----------------|--|---|
| <b>Şekil 1.</b> | CP'nin kimyasal yapısı ve metabolizması..... | 4 |
| <b>Şekil 2.</b> | Serbest radikallere bağlı hasarlar.....      | 6 |

## RESİMLER DİZİNİ

|                 |   |    |
|-----------------|---|----|
| <b>Resim 1.</b> | Hayvanların genel görünümü ve oluşturulan deney grupları                            | 12 |
| <b>Resim 2.</b> | İntraperitoneal olarak ratlara siklofosamid verilmesi                               | 14 |
| <b>Resim 3.</b> | Karaciğer. Sinüzoidlerde dilatasyon (oklar)   | 20 |
| <b>Resim 4.</b> | Karaciğer. Hepatositlerde dejenerasyon (okbaşları) ve nekrozlar                     | 20 |
| <b>Resim 5.</b> | Böbrek. Tubulus epitellerinde dejenerasyon (oklar) ve nekrozlar                     | 23 |
| <b>Resim 6.</b> | Karaciğer. Safra kanalı epitellerinde hiperplazi (oklar)                            | 24 |
| <b>Resim 7.</b> | CP'nin yüksek dozda verildiği ratların karaciğerlerinde MT ekspresyonları (oklar)   | 30 |
| <b>Resim 8.</b> | CP'nin yüksek dozda verildiği ratların böbreklerinde ait MT ekspresyonları (oklar)  | 30 |
| <b>Resim 9</b>  | CP'nin düşük dozda verildiği ratların karaciğerlerine ait MT ekspresyonları (oklar) | 31 |
| <b>Resim 10</b> | CP'nin düşük dozda verildiği ratların böbreklerine ait MT ekspresyonları (oklar)    | 31 |

## TABLULAR DİZİNİ

|                 |   |    |
|-----------------|---|----|
| <b>Tablo 1.</b> | CP'nin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....   | 3  |
| <b>Tablo 2.</b> | CP'nin düşük dozda verildiği ratların canlı ağırlıklarının haftalara göre değişimleri.....  | 17 |
| <b>Tablo 3.</b> | CP'nin yüksek ve düşük dozda verildiği ratların organ ağırlıkları .....   | 17 |
| <b>Tablo 4</b>  | CP'nin yüksek dozda verildiği ratların karaciğerlerine ait mikroskopik bulguların semikantitatif sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi.....                      | 19 |
| <b>Tablo 5.</b> | CP'nin yüksek dozda verildiği ratların böbreklerine ait mikroskopik bulguların semikantitatif sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi.....                         | 22 |
| <b>Tablo 6.</b> | CP'nin düşük dozda verildiği ratların karaciğerlerine ait mikroskopik bulguların semikantitatif sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi.....                       | 25 |
| <b>Tablo 7.</b> | CP'nin düşük dozda verildiği ratların böbreklerine ait mikroskopik bulguların semikantitatif sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi.....                          | 27 |
| <b>Tablo 8.</b> | CP'nin yüksek ve düşük dozlarda verildiği metalotiyonin antikoruna ait immunohistokimyasal bulguların semikantitatif sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi ..... | 29 |



## ÇİZELGELER

|  |   |
|--|---|
| <b>Çizelge 1.</b> Selenoproteinler ve işlevleri..... | 8 |
|--|---|

## ÖZET

### **RATLARDA DENEYSEL SİKLOFOSFAMİD TOKSİKASYONUNDA SODYUM SELENİT'İN KARACİĞER VE BÖBREKTE METALLOTİYONİN EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Karaboğa M. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Patoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2018.**

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda siklofosfamid (CP) verilen ratlarda sodyum selenitin karaciğer ve böbrek dokularında metallothionin (MT) ekspresyonu üzerine olan etkinliği araştırıldı. Bu amaçla çalışmada toplam 48 adet, ağırlıkları  $200\pm 10$  gram olan erişkin Wistar Albino ırkı dişi rat kullanıldı. Çalışmada gruplandırma; Grup I (Kontrol grubu; uygulama süresi boyunca 1ml/gün serum fizyolojik uygulandı), Grup II (CP grubu; bu gruptaki deney hayvanlarına 1 gün süre ile her hayvana intraperitoneal olarak 200 mg/kg/gün CP uygulandı), Grup III (Sodyum Selenit grubu; bu gruptaki deney hayvanlarına 1 gün boyunca her hayvana intraperitoneal olarak günlük 1 mg/kg dozda sodyum selenit uygulandı), Grup IV (Sodyum Selenit grubu + CP grubu; bu gruptaki deney hayvanlarına 1 gün süre ile her hayvana günlük 1 mg/kg sodyum selenite ilaveten, 200 mg/kg/gün dozda CP intraperitoneal olarak uygulandı), Grup V (CP grubu; bu gruptaki deney hayvanlarına 35 gün süre ile her hayvana intraperitoneal olarak 5 mg/kg/gün CP uygulandı), Grup VI (Sodyum Selenit grubu; bu gruptaki deney hayvanlarına 35 gün boyunca her hayvana intraperitoneal olarak günlük 1 mg/kg dozda sodyum selenit uygulandı), Grup VII (Sodyum Selenit grubu+CP grubu; bu gruptaki deney hayvanlarına 35 gün süre ile her hayvana günlük 1 mg/kg intraperitoneal sodyum selenite ilaveten, 5 mg/kg/gün dozda CP intraperitoneal olarak uygulandı) ve Grup VIII (Kontrol grubu; uygulama süresi boyunca 1ml/gün serum fizyolojik uygulandı) olmak üzere 8 farklı grup ve her grupta da 6 hayvan olacak şekilde yapıldı. Çalışmanın sonunda alınan karaciğer ve böbrek örnekleri histopatolojik, ve immunohistokimyasal incelemeler için kullanıldı. Yüksek dozda CP ile birlikte eş zamanlı olarak sodyum selenit verilen gruplarda histopatolojik bulguların şiddeti, yalnızca CP verilen gruba göre anlamlı bir şekilde düşük bulundu. Ayrıca bu gruplardaki dokulara ait MT ile ilgili immunohistokimyasal bulgular ile histopatolojik bulguların şiddeti değerlendirme açısından paralellik gösterdi. Düşük dozda 35 gün süre ile CP ile birlikte eş zamanlı olarak sodyum selenit verilen gruplarda histopatolojik

ve immunohistopatolojik bulguların şiddeti, yalnızca CP verilen gruba göre düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmamızda bir gün süre ile yüksek dozda uygulanan CP'nin toksik etkilerine karşı, kuvvetli antioksidan özelliklere sahip sodyum selenit' in koruyucu alternatif bir kimyasal madde olarak kullanılabileceği görüldü.

**Anahtar Kelimeler: Histopatoloji, İmmunohistokimya, Siklofosfamid, Sodyum Selenit, Metalloiyonin, Rat**

## **ABSTRACT**

### **INVESTIGATION OF EFFECTS OF SODIUM SELENITE ON THE EXPRESSION OF METALLOTHIONEIN IN THE LIVER AND KIDNEY IN CYCLOPHOSPHAMIDE-INDUCED TOXICITY**

**Karaboğa M. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences  
Department of Veterinary Pathology, Master Thesis, Aydın, 2018**

The aim of this study was to investigate the protective effects of Sodium Selenite, which have strong antioxidant properties, against the toxic effects of high dose cyclophosphamide on liver and kidney of rats. For this purpose, overall 48 adult Wistar albino female rats at the weight of,  $200\pm 10$  gr were used. These animals were allotted into following groups: Group I (Control group; 1ml/day serum physiologique was administered), Group II (Cyclophosphamid group; each animal was administered daily 200 mg/kg/day cyclophosphamide intraperitoneally for one day), Group III (Sodium Selenite group; each animal was administered daily 1 mg/kg/day Sodium Selenite intraperitoneally for one day), Group IV (Cyclophosphamid+Sodium Selenite group; each animal was administered daily 200 mg/kg/day cyclophosphamide intraperitoneally and 1mg/kg/day Sodium Selenite intraperitoneally for one day), Group V (Cyclophosphamid group; each animal was administered daily 5 mg/kg/day cyclophosphamide intraperitoneally for thirty-five days) and Group VI (Sodium Selenite group; Sodium Selenite group; each animal was administered daily 1 mg/kg/day Sodium Selenite intraperitoneally for thirty-five days), Group VII (Cyclophosphamid+Sodium Selenite group; each animal was administered daily 5 mg/kg/day cyclophosphamide intraperitoneally and 1 mg/kg/day Sodium Selenite intraperitoneally for thirty-five days), Group VIII (Control group; 1ml/day serum physiologique was administered) and each of these eight groups included six rats. After this procedure, followed by euthanasia, tissue samples obtained from liver and kidney, were used for pathological examinations. Tissue samples obtained for pathological examination fixed in 10% buffered formalin solution. Paraffin blocks prepared after routine procedure was cut at the thickness of 4-6 micron and were stained by haematoxyline-eosin (HE) and examined under light microscope. The results of the present study is important in that it investigates the employment of alternative protective method against the toxic effects of cyclophosphamide at high doses. In this context, the fact that Sodium Selenite has no harmful effects, It was

tolerated well by the body and It has low cost suggests that the findings obtained might be important for human and animal health.

**Keywords: Histopathology, Immunohistochemistry, Cyclophosphamide, Sodium Selenite, Metallothionein, Rat**

# 1. GİRİŞ

Kanser, dünya genelinde giderek artan bir sağlık sorunu olup, toplumlarda önemli bir sosyoekonomik yüke, bireylerde de maddi-manevi kayıp ve zorluklara neden olmaktadır. Sağlık Bakanlığı Kanser Dairesi Başkanlığının resmi internet sayfası (2014) verilerine göre Dünya’da toplam 14,1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş ve 8,2 milyon kansere bağlı ölüm olmuştur. WHO internet sayfası verilerine göre Dünya’da 2018 yılında 9.6 milyon ölümün kanserden dolayı olacağı tahmin edilmektedir. Kanserde benzer seyir devam ettiği takdirde ise 2030 yılına gelindiğinde yıllık 22 milyon yeni kanser ortaya çıkması, yani 2008 verilerine göre yeni vakalarda %75 artış olması beklenmektedir (Ferlay ve ark, 2013). Türkiye’ de ise malign tümör nedeniyle gerçekleşen ölümlerin toplam sayısı 2017 yılında 79 bin 889 kişi olmuştur (TÜİK, 2017).

Kanser, vücut hücrelerinin denetimsiz bir şekilde çoğalması, invaziv özellik kazanması ve başka yerlere metastaz yapmasıyla ortaya çıkan ve halen gelişmiş ülkelerin ölüm nedenlerinde kardiyovasküler kaynaklı ölümlerden sonra ikinci sırada gelen, kontrolsüz hücre bölünmesinin sonucunda oluşan hastalıktır (Türker ve Kayaalp, 2002). Günümüz dünyasında kanser tedavisi; cerrahi, kemoterapi ve radyoterapinin kombinasyonu şeklinde uygulanmakta olup, cerrahi yöntemlerdeki hedef, kanserli doku ve organın lokalizasyonundan uzaklaştırılması iken, kemoterapi ve radyoterapide ise hedef kanserli hücrelerin ortadan kaldırılmasıdır (Gate ve Tew, 2001; Türker ve Kayaalp, 2002). Çalışmamızda farklı konsantrasyonlarda siklofosamid (CP) verilen ratlarda sodyum selenitin karaciğer ve böbrek dokularında metalotiyonin (MT) ekspresyonları üzerine olan etkinlikleri araştırıldı. CP, tümörlerin ve otoimmün hastalıkların tedavileri ile kemik iliği nakillerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Selenyum doğada yaygın olarak bulunan bir izlement olup antioksidan niteliktedir. Ekspresyonu incelenen MT ise metal bağlayabilen protein olup özellikle ağır metallerin detoksifikasyonunda önemli bir yer tutar (Florianczyk, 2007; Duntas, 2014; Cuce ve ark, 2015).

Son yıllarda CP gibi birçok antineoplastik ilacın daha yüksek dozlarda güvenle kullanılabilmesine imkan sağlaması için bu ilaçların toksik etkilerinin önlenmesini sağlayan yöntemlerin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Kemoterapi, kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını engellemek veya hedef hücreleri yok etmek amacı ile doğal ya da sentetik kimyasal maddeler, biyolojik ajanlar veya hormonlar ile yapılan tedavilerin hepsini içine alan bir tedavi yöntemidir (Atal, 2014).

Kemoterapötik ilaçlar, farmakolojik özellikleri ile hücre döngüsü üzerindeki etkileri göz önüne alındığında alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, antitümör antibiyotikler, bitki alkaloidleri, kortikosteroidler olarak sınıflandırılır (Can, 2005; Gültekin, 2013; Dökmeci, 2000). Antimetabolit grubuna dahil olan ilaçlar özellikle hücre bölünmesinde gerekli olan temel metabolitlere benzeyen ancak aynı işlevi yapamayan maddelerdir. Bu grupta; cytrabine, methotexate, 6-mercaptopurine, 6-tioguanine bulunmaktadır. Hücrenin normal metabolitleri ile benzerlik gösterdiklerinden onların yerini alarak hücre aktivitesini bloke eder, azaltır ya da büyük moleküllerin içine girerek, işlevsiz bir makromolekül meydana getirirler (Dökmeci, 2000; Kayaalp, 2005).

Bitki Alkaloidleri, vinka alkaloidleri ve podofilotoksinlerden yarısentetik olarak elde edilen ilaçlardır. Siklus bağımlı ilaçlar olup vinka alkaloidleri tubulin adında mikrotubulleri meydana getiren bir hücre proteini üzerine spesifik olarak bağlanırlar. Bunun sonucu olarak mitoz evresinde kromozomların segregasyonu meydana gelmez ve hücre ölür (Vuuren ve ark., 2015). Podofilotoksin türevleri ise mitozda hücre siklusunu bloke etmezler, selektif olarak inhibe ettikleri topoizomeraza 2' ye bağlı DNA'nın çift zincirinin kırılmasından sorumludurlar. Bitki alkaloidleri grubunda; vincristine, vinblastine, etoposide ve teniposide yer almaktadır (Dökmeci, 2000; Kayaalp, 2005).

Antitümör antibiyotik grubundaki kemoterapötikler DNA zincirlerine bağlanarak DNA ve RNA polimerazların fonksiyonlarını bloke ederler. Bu fonksiyonların bloke edilmesi sonucu DNA kopyalanması ve mRNA transkripsiyonu bozulur. Antitümör antibiyotik grubundaki kemoterapötikler ayrıca topoizomeraza 2 inhibisyonuna ve serbest radikallerin oluşmasına neden olur (Edwardson ve ark, 2015). Başlıca kanserostatik veya interkalasyon ilaçları grubunda; antrasiklinler (daunorubisin, doksorubisin, epirubisin, zorubisin, aklarubisin, pirarubisin ve idarubisin), antrasedionlar (daktinomisin, aktinomisin D), mitoksantron, bleomisinler, amsakrin, plikamisin, mitomisin c ve eliptinium vardır (Dökmeci, 2000; Kayaalp, 2005).

Kortikosteroid grubundakiler (deksametazon, prednizolon) pasif difüzyonla hücre içine girip, glukokortikoid reseptörleri ile bağlanarak çekirdeğe geçer ve çekirdekte DNA ile etkileşime girip transkripsiyonu bozarlar (Dökmeci, 2000; Kayaalp, 2005). Alkilleyici Ajanlar grubunda ise CP, busulfan, carboplatin, dacarbazine, ifosfamide, lomustine, melphalan, nitrojen mustard, procarbazine ve tiotepa bulunmaktadır. Sitotoksik etkileri, karşılaştıkları biyolojik moleküllerle kovalent bağlar oluşturarak proteinlerin sentezini ve hücre bölünmesini bozmak şeklindedir (Bertram, 2012). Alkilleyici ajanlar içerisinde de kullanımı en yaygın olan CP'dir (Şener, 2006).

## 2.1. Siklofosfamid

Siklofosfamid (CP) kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardan birisidir (Pool ve ark. 1988; Wang ve ark. 2009). Antineoplastik ilaçların alkilleyici grubuna dahil olan bir ajan olup oksazofosforin'dir (Bernacki ve ark, 1987). CP, nitrojen mustard grubundan alkilleyici kemoterapötik bir ilaçtır (Singh, 2018).

| CP'nin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri |  |
|---|--|
| Moleküler Formülü                       | C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> CL <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> P   |
| Moleküler Ağırlık                       | 261,09   |
| Fiziksel Özellikler                     | Kokusuz, ince beyaz kristal toz  |
| Erime Noktası                           | 49,5 – 53 °C   |
| Kaynama Noktası                         | 336 °C   |
| Yoğunluk                                | 1,479 g/cm <sup>3</sup>  |
| Çözünürlük                              | Kloroform, dioksan ve glikoller içinde çözülür, benzen, karbon tetraklorürde hafifçe çözünür, eter ve asetonda çok az çözünür. |
| Çözünme Katsayısı                       | 0,63   |
| pKa                                     | 4,5-6,5  |
| Stabilite                               | 30°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda klor atomlarının ayrışmasıyla hidroliz meydana gelir. Oksidasyon, nem ve ışığa duyarlıdır.   |

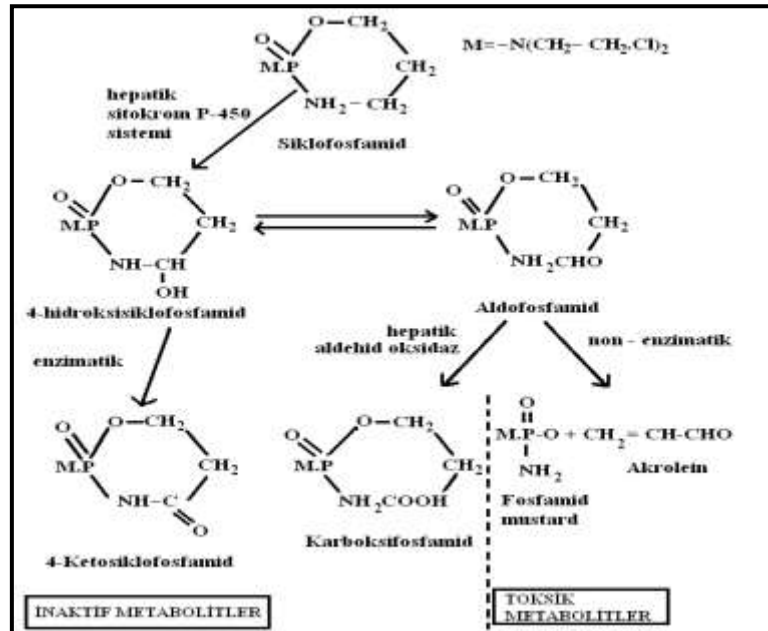
Tablo 1: CP'nin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (Wang ve ark, 2009).

CP'nin kullanım alanları da oldukça geniş olup; pediatrik solid tümörler, çocukların akut lenfositik lösemisinde (Limandal, 2013), non Hodgkin lenfomalarda (Glode ve ark, 1981; Çarlıoğlu ve ark, 2003), küçük hücreli olan veya olmayan akciğer kanseri vakalarında



(Thatcher ve ark, 1988), yumuşak doku sarkomlarında, nöroblastomlarda rhabdomyosarkomlarda (Bertram, 2012), Behçet hastalığında (Özyazgan ve ark, 1992), romatoid artrit vakalarında, çocukların nefrotik sendromunda (Koyama ve ark, 1977; Haas ve ark, 1987; Dollery, 1999), trombositopenik purpurada, sistemik lupus eritematozisde ve Wegener granülomatosisi gibi hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır (Bertram, 2012). Ayrıca CP organ transplantasyon sonrasında doku reddinin kontrolünde de yaygın olarak kullanılmaktadır (West ve ark, 1966; Hsu ve ark, 1979; Ataya ve ark, 1989).

CP hem oral yoldan hem de parenteral yoldan kullanılabilir. Kan plazmasında yarılanma ömrü yaklaşık 6.5 saat olup; parenteral yolla verildiğinde ilacın aktif metabolitlerinin kan plazma konsantrasyon pikine ulaşma süresi 2-3 saattir (Akçasu ve ark, 1992; Bertram, 2012). Oral uygulamalarda maksimum serum konsantrasyonuna bir saatte ulaşılır. CP karaciğerde metabolize olur ve 48 saat içinde böbrekler tarafından atılır. Verilen dozun %3-25'i ana bileşik olarak organizmadan atılır. CP, karaciğerde sitokrom P-450 enzimleri ile 4-hidroksi-siklofosfamid'e aktive edilir ve bu da aldofosfamide izomerleşir. Aldofosfamid, alkilleyici ajan olan fosforamid mustardına (FAM) ve idrar kesesini etkileyen sitotoksik bir parçaya dönüşen akroleine (ACR) dönüştürülür (Bernacki ve ark, 1987; Budavari, 1989; Kawabata ve ark, 1990; Boxtel, 2007; Chabner, 2001) (Şekil 1).



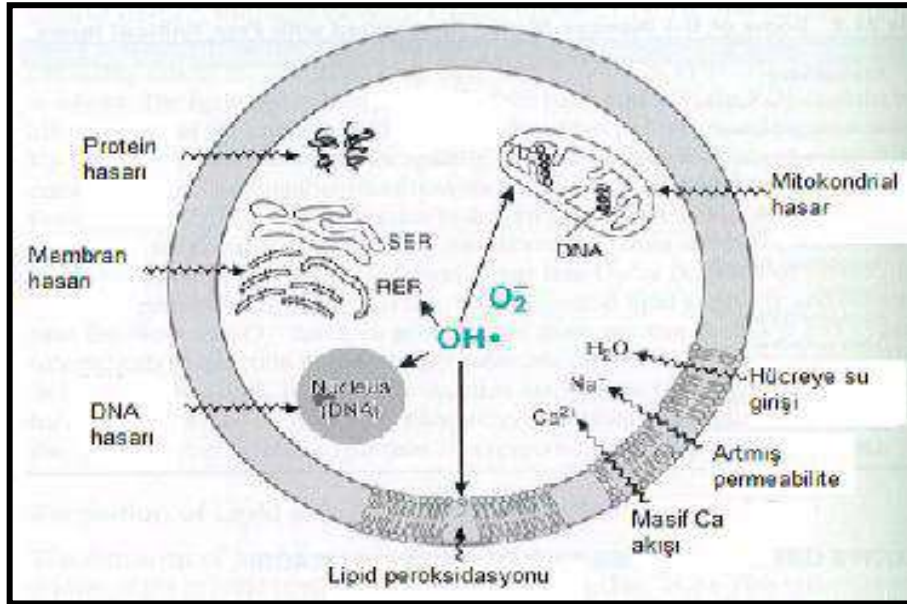
Şekil 1 : CP'nin kimyasal yapısı ve metabolizması (Bayramoğlu, 2007).

CP'nin DNA molekülü üzerinde sıklıkla bağlandığı yer, guaninin yedi sayılı azot atomudur ve bu yerin alkillenmesi, DNA molekülünde aşağıdaki üç önemli değişiklikten birine yol açar: İlk olarak guaninin 7'inci azottan alkillenmesi, bu maddenin bir numaralı azot atomunun asiditesini artırır (Maccubbin ve ark, 1991; Selvakumar ve ark, 2006). Molekülde oluşan söz konusu değişme, onun sitozin yerine timin ile baz çifti yapmasını teşvik eder. Alkilleyicilerin bağlanması sonucu anormal baz çiftinin oluşması, genetik kodun yanlış okunmasına yani replikasyon ve transkripsiyon sırasında guaninin, adenin gibi işlem görmesine veya okunmasına neden olur (Selvakumar ve ark, 2006) Bu olay, yeni DNA zincirinde ve mRNA moleküllerinde önemli bozukluklara yol açar, guaninin imidazol halkası açılır ve böylece guanin parçalanır ve ortadan kalkar. Sonuçta DNA zinciri buradan kırılmış olur, son olarak da oluşan reaktif metabolit, iki ayrı zincirdeki guanin arasında köprü (çapraz-bağlanma) yapar ve bu durumda DNA'nın replikasyonu ve transkripsiyonu gerçekleşemez (Maccubbin ve ark, 1991; Selvakumar ve ark, 2006; Kayaalp, 2012).

CP' nin antineoplastik etkileri FAM ile ilişkiliyken, toksik yan etkileri ise CP' nin metabolize edilmesiyle ortaya çıkan akrolein ile bağlantılıdır (Kern ve ark, 2002). CP 'in en sık görülen yan etkileri bulantı, kusma, diğer gastrointestinal bozukluklar, kemik iliği baskılanması, bazen alopesi, azospermi ve gonadal yetmezlik şeklinde sıralanabilir. Bulantı ve kusma gibi klinik bulgular, ilacın verilisinden en az altı saat sonra başlar ve dört saat kadar sürer (Kayaalp, 2012). CP' den T ve B lenfositleri yoğun olarak etkilenir ki CP' nin B lenfositlere etkisi daha fazladır. Myelosupresif etkiye bağlı lökopeni ve trombositopeni ilaca başladıktan bir-iki hafta sonra en alt seviyeye iner. CP kullanımında tipik bir yan etki de üroteliyal toksisite ve steril hemorajik sistit tablosudur. Akrolein kaynaklı sistit zamanla mesanede fibrozise evrilebilir ve mesane kanseri gelişebilir (Koyama ve ark, 1977; Montz ve ark, 1991; Fritz ve Kaina, 2006).

ACR glutatyon ile bağladıktan sonra hücrel hasar yapabilir. Glutatyon bağımlı doku antioksidan (AO) savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda serbest oksijen radikali (SOR) oluşuma yol açar ve bu hücreler için mutajenik etkiye sahiptir (Mythili ve ark, 2004; Senthilkumar ve ark, 2006). ACR etkisi sonucu meydana gelen serbest radikaller dış orbitallerinde çift oluşturmamış elektron içerdiklerinden; enzim, reseptör ve iyon pompaları gibi moleküllerle birleşerek bu yapıların fonksiyonlarını yapmasını engellerler (Arumugam ve ark, 1997; Mythili ve ark, 2004; Yousefipour ve ark, 2005; Senthilkumar ve ark, 2006) (Şekil 2).

ACR böbrek epitelyumunu geçerek ROS' ları uyarır buna ilaveten de nitrik oksit sentaz (NOS) üzerinden nitrik oksit (NO) seviyelerini de arttırarak etkisini gösterir. NO L-arginininden sentez NOS yolu ile sentez edilir (Korkmaz ve ark, 2007). NOS'lar üç tip olup bunlar endotelial NOS (eNOS) , nöronal NOS (nNOS) ve indüklenebilir NOS olan iNOS' tur. Endotelial NOS vazodilatasyondan, nöronal NOS sinirsel sinyalizasyonda, iNOS ise lökosit ve makrofajlarca sentezlenerek patolojik durumlarda görev alan enzimdir (Szabo, 1996). Genel olarak patolojik durumlarda sentezlenen iNOS'un aktivasyonu ile eNOS aktivasyonundan daha çok miktarda NO üretilebilir (Szabo, 1996; Korkmaz ve ark, 2007). Hemorajik sistit durumunda subüretelyumda iNOS üreten immünoreaktif hücrelerin sayısı artmaktadır. Ayrıca ACR' nin tetiklediği mekanizmalar sonucunda interlökin- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , trombosit aktive edici faktör, COX-2 ve güçlü bir oksidan olan peroksinitrit seviyeleri artmaktadır (Korkmaz ve ark, 2005).



Şekil 2 : Serbest Radikallere Bağlı Hasarlar (Akkuş, 1995).

## 2.2. Selenyum

Selenyum (Se) 1817 yılında Jöns Jakob Berzelliuss tarafından isimlendirilen ve doğada yaygın olarak bulunan bir elementtir (Wilber, 1980). Selenyum 1930 yıllara kadar toksik bir element olarak kabul edilmiştir (Seward ve ark, 1966; Yalçın, 1993). Ancak, 1957 yılında ise Schwarz ve Foltz tarafından karaciğer dejenerasyonunda koruyucu etkinliği olduğu ortaya konmuştur (Schwarz ve Foltz, 1957).

Kimyasal olarak Se periyodik cetvelde 6A grubunda yer alır. Se'nin atom ağırlığı 78.96 olup atom numarası ise 34'tür. Se'un doğal olarak sabit kalan altı tane izotopu vardır. Se78 ve Se80 izotopları, doğada bulunan Se'un yaklaşık %73'ünü teşkil etmektedir (Sunde, 1997 ; Payne, 2004).

Selenyum, doğada elementel Se (Se0), selenid (Se-2), selenit (Se+4), ve selenat (Se+6) olarak bulunur (Mikkelsen ve ark, 1989; Deliboran ve ark, 2018). Selenyum doğada kurşun, çinko, fosfat ve uranyum gibi elementlerle katışık formda bulunur. Endüstriyel sanayide, insektisit- fungusit gibi ilaç üretiminde de kullanılmaktadır. Astragalus, stanleya ve aster gibi selenifer bitkiler önemli selenyum kaynaklarını teşkil eder. Gıda yönünden Se kaynaklarına örnek olarak; deniz ürünleri, sakatat (böbrek ve karaciğer), kırmızı et, beyaz et, tahıllar, kuruyemiş, soğan, sarımsak, yumurta ve mantar gösterilebilir (Oster, 1989; Matek ve ark, 2000). Se'nin ana kaynağı toprak olmakla birlikte bitki ve hayvanlardaki bulunma formu farklıdır. Bitkilerde selenometionin, Se-metil-selenometionin, selenosistin ve selenosistein, hayvan dokularındaysa çoğunlukla selenometiyonin ve selenosistein olarak bulunur (Cousin, 1961; Ullery, 1992, Aksoy, 2000) (Çizelge 1). Dokulardaki selenoproteinler selenyumun biyolojik olarak fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesini sağlar (Akkuş ve ark, 1991).

| Seleonoprotein                            | Selenoprotein işlevi  |
|---|---|
| Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)             | Antioksidan bir enzim olup görevi membran bütünlüğünü sağlamaktır. Bu bütünlüğü hidrojen peroksit, lipid ve fosfolipid hidroperoksitleri uzaklaştırarak sağlar. Eikozonoid sentezini ve yangıyı modüle eder. Oksidatif hasarın lipid, lipoprotein ve DNA' da daha da ilerlemesini önlemektedir. |
| Sperm mitokondrial kapsül proteini        | Gelişmekte olan sperm hücrelerini oksidatif hasara karşı korumaktadır. Daha sonra olgun spermin stabilitesi ve hareketliliği için gerekli yapısal bir proteine polimerize edilmektedir.   |
| İyodotironin deiyodinaz                   | T4'den aktif tiroid hormonu olan T3'ün oluşumunu sağlar ve yine T3'ün regülasyonunu katalize etmektedir.  |
| Tiyoredoksin redüktaz                     | DNA sentezinde nükleotidlerin redüksiyonunu, antioksidan sistemlerin yenilenmesini ve hücrenin proliferasyonu için kritik olan hücre içi redoks durumunu sağlamaktadır. DNA'ya transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasında redoks kontrolünü sağlayarak gen ekspresyonunu düzenlemektedir.       |
| Selenofosfat sentetaz                     | Selenosisteinin prekürsörü olan selenofosfat sentezini düzenler.  |
| Selenoprotein P                           | Plazmada bulunur ve endotel hücrelerini peroksinitrit ile oluşan oksidatif hasara karşı korur.  |
| Selenoprotein W                           | Kas fonksiyonlarının oluşabilmesi için gereklidir.  |
| Prostat epitelyum selenoproteini (15 kDa) | Ventral prostatın epitel hücrelerinde bulunmaktadır. GSH-Px'a benzeyen redoks fonksiyonuna sahip olduğu ve sekretör hücreleri karsinomaya karşı koruduğu düşünülmektedir.   |
| 18 kDa Selenoprotein                      | Böbrek başta olmak üzere çok sayıda dokuda bulunan önemli bir selenoproteindir. Selenyum yoksunluğunda dokuları korumaktadır.   |
| DNA'ya bağlı spermatid protein (34kDa)    | GSH-Px'a benzer fonksiyonu vardır. Mide ve spermatozonların hücre çekirdeklerinde lokalize olmuştur. Gelişen sperm hücrelerini korumaktadır.  |

Çizelge 1: Selenoproteinler ve işlevleri (Rayman, 2000).

Mitokondri ve sitoplazma enzimi Glutasyon peroksidaz'ın aktif bölgesinde bulunan Se selenosistein özelliğindedir. Özellikle eritrositler için önemli bir yer tutan enzim, hidrojen peroksiti detoksifiye eder (Akkuş ve ark, 1991). Doğada yaygın olarak bulunan bir iz element olan Se'nin organizmada yetersizliğinde çeşitli hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Se yetersizliğinde; tavuklarda yumurta üretiminin azalması, civciv çıkma oranının düşmesi, ensefalomalasi ile karakterize Deli Civciv Hastalığı (Crazy Chick Disease), pankreatik fibrozis ve kılcal damarlardaki permeabiliteden kaynaklı ödemle karakterize eksudatif diatez görülür (Göger, 1997). Se yönünden yetersiz otlak ve meralarda beslenen koyunlarda Beyaz

Kas Hastalığı sıklıkla görülmektedir. Beyaz Kas Hastalığı, vitamin E ve selenyum yetersizliği sonucu oluşan bir hastalık olup, hastalıkta vitamin E ve selenyumun antioksidatif etkileri azalır. Antioksidatif etki azalması sonucu iskelet kasları, kalp kası ve diyafram kasında hyalin dejenerasyonu meydana gelir. Ülkemizde Orta Anadolu, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yaygın olarak görülmektedir (Bildik, 1996). Canlılarda selenyum yetersizliği sonucu tiroid hormonlarının seviyelerine ilişkin birçok çalışma vardır. Tiroid hormonlarının en bilinenleri tiroksin (T4) ve triiyodotironin (T3)'dir. T3 biyokimyasal parametrede T4'ten 10 kat daha aktif bir hormondur. Troid bezinden salgılanan tiroksin selenoenzim 5-deiyodinaz'lar aracılığıyla T3'e dönüştürülür. Deiyodinazların 3 tipi vardır. Bunlar tip I, II, III selenoenzim 5-deiyodinaz'lardır. Bu üç gruptan Tip I olanı Se içerir ve T4'ün T3'e dönüştürülmesinde esas görev yapan enzimdir. Dolayısıyla SE yetersizliğinde tip I enzim seviyesinde azalma olur ve bunun sonucu olarak T4'te artma ve T3'te azalma meydana gelir (Ateşşahin ve ark, 2002; Karataş ve ark, 2006). Domuzlarda Se yetersizliğine bağlı hepatosis dietetika geliştiği bildirilmiştir (Eggert ve ark, 1957; Moir ve Masterst, 1979). Hemolitik anemi, Glanzmann trombastenisi, Koroner Arter Hastalığı gibi kan ve kardiyovasküler hastalıkların Se yetersizliği ile ilişkisi ortaya konmuştur (Orak ve ark, 2000).

Çin'de endemik şekilde görülen ve bilhassa küçük çocuklar ile seksüel olgunluğa ulaşmış kadınları etkileyen bir kardiyomyopati patolojisi olan Keshan Hastalığı ile Se yetersizliği arasında doğru orantı olduğu saptanmıştır (Keshan Disease Research Group, 1979a ve 1979b). Yine Kashin-Beck (Osteoartrit) hastalığı Se yetersizliği ile ilişkilidir (Kolsteren, 1992). Se yetersizliği ruminantlarda infertilite, abortlara, gebe olan ruminant ve ratlarda ise embriyonik ölümlere neden olarak reproduktif verimin azalmasına sebebiyet vermektedir (Yarsan, 1996).

Selenyum toksisitesi akut veya kronik olarak ortaya çıkabilir. Selenyum toksisitesinde belirtiler; bulantı, kusma, kilo kaybı, karın ağrısı, diyare, saç kaybı, tırnakların kırılması, ayak lezyonları, periferik nöropati, karaciğer sirozu ve kalpte atrofi şeklindedir (Duntas ve ark, 2014).

### **2.3. Metallotiyonin**

Metallotiyoninler (MT) ilk olarak Margoshes ve Vallee tarafından 1957 yılında memeli böbrek hücrelerinde kadmiyum bağlayıcı bir protein olarak keşfedilmiştir (Margoshes

ve Vallee, 1957; Hamer, 1986). MT'ler bitkilerde, hayvanlarda ökaryotik mikroorganizmalarda ve birçok prokaryotta çeşitli formlarda bulunur (Klaassen ve ark, 1999). MT'ler Zn ve Cu gibi temel metallerin homeostasisinde ve Cu, Cd, Hg ve Ag gibi ağır metallerin detoksifiye edilmesinde önemli rol oynayan, sistein aminoasitince zengin, sıcaklık-stabil, çözülebilen, metal bağlama özelliğine sahip, 61-68 aminoasit içeren, 6000–7000 Da kadar düşük moleküler ağırlığa sahip proteinlerdir (Viarengo ve Nott, 1993).

MT'lerin memelilerde onbeş farklı çeşidi bilinmektedir. Bu farklılıklar sistein aminoasitlerinin farklı biyokimyasal dizilimine bağlı olarak şekillenir. Memelilerde MT' nin başlıca 4 tipi tanımlanmıştır, bu izoformlar MT-1, MT-2, MT-3 ve MT-4 ten oluşmaktadır (Coyle ve ark, 2002). Fare MT gen ailesi 8'inci kromozomda lokalize olmuş dört gen (MT-1, MT-2, MT-3 ve MT-4) içermesine rağmen, insanlar ve primatlardaki MT'ler 16'ncı kromozomda yerleşik durumdadır ve en az onbeş MT geni vardır. Bunlardan birer tanesi MT-2, MT-3 ve MT-4 genlerinden oluşurken en az on üç tane MT-1 geni vardır. Memelilerde en çok üretilen MT geni; MT 1 ve MT 2'dir (Sato ve Kondoh, 2002; Pastacı, 2010). MT'ler 4 divalent metal bağlayabilen alfa (C terminal) zincirlerle, 3 divalent metal bağlayan beta (N-terminal) zincirlerine sahiptir. Beta zincirler Cu, Zn ve Cd gibi elementleri daha hızlı bağlar, alfa zincirlerse diğer elementlerin bağlanmalarını sağlarlar (Kagi ve Kojima, 1987; Coyle ve ark, 2002).

MT sentezi metallerin (  $Zn^{+2}, Cu^{+2}, Cd^{+2}, Hg^{+2}$ ) yanı sıra; ultra viyole (UV)' ye maruziyet, açlık, fiziksel travma, pestisit kaynaklı oksidatif stres, tuzluluk, sıcaklık soğukluk, ekzersiz, kimyasal maddeler (Parakuat, CCl<sub>4</sub>), alkilleyici maddeler, kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar (doksorubisin, cisplatin, bleomisin), inflamasyon, sitokinler (interleukin-1, interleukin-6, TNF- $\alpha$ : tümör nekroz faktör), glukokortikoidler (deksametazon), katekolaminler (epinefrin, norepinefrin), forbol esterleri, adenozin, bakteriyel enfeksiyonlar, polipeptid hormonlar (Anjiotensin-II, Glukagon) gibi faktörlerle de indüklenebilmektedir (Sato ve ark, 1993; Viarengo ve ark, 1999; Mosleh ve ark, 2005). MT'lerin ayrıca prognozu kötü olan tümörlerin tedavilerinde kullanılan ilaçlara karşı sitotoksik direnç gösterdikleri bildirilmiştir (Cherian ve ark, 2003; Gomulkiewicz ve ark, 2010).

Bulunma oranlarını karşılaştırdığımızda pankreastaki MT miktarı %100 kabul edildiğinde, karaciğer, ince bağırsak ve böbreklerde oranlar sırasıyla %42, %30 ve %16 şeklinde görülmektedir (McCormick, 1984). MT-1 metallerin detoksifiye edilmesinde önemli iken, MT-2 sıklıkla hücrelerin metabolizması üzerinde etkilidir. MT-1 ve MT-2 en çok karaciğer, böbrek, barsak ve pankreasta bulunur. MT-3 beyin başta olmak üzere testis,

epididimis, prostat, ovaryum, kalp, dil ve midede yerleşim gösterir. MT-4 ise; çok katlı yassı epitel katmanında dil, deri, ağız ve özefagus gibi organ ve dokularda daha geniş dağılım gösterir (Ryvolova ve ark, 2011).

Karaciğer hücrelerinin korunmasında antioksidantlar, glutathione ve alfa tokoferoller aktif rol oynamaktadır. Potansiyel bir antioksidant olan MT, glutathione yapısına benzerlik gösterir ve karaciğer epitel hücrelerinin korunmasında önemli bir yere sahiptir. MT'ler prooksidant antioksidant oranındaki değişiklikler sonucu ortaya çıkan oksidantların etkilerini ortadan kaldırarak lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve oksidatif stres sonucu meydana gelecek fonksiyon bozukluklarını inhibe etmektedir (Zhou ve ark, 2002). Hepatik MT'in türlere göre bulunma miktarları değişmektedir. İnsan, keçi, köpek, kedi ve domuzlarda 400-700 µg/g iken maymun, sığır ve koyunda 200 µg/g, rodent ve tavşanlarda 2-10 µg/g civarında MT bulunmaktadır (Coyle ve ark, 2002).

Pankreas ve safra salgılarında bol miktarda Zn ve MT bulunmaktadır. Çinko, Langerhans adacıklarındaki hücrelerin biyokimyasal faaliyetleri için önemli bir elementtir. Pankreastaki beta hücrelerinin bol miktarda çinko içermesi, insülin hormonunun salgılanmasını, depolanmasını ve biyosentezinin gerçekleşebilmesini sağlamaktadır. Çinkodan alımlarında pankreasta MT üretimi artarak beta hücrelerindeki işlev bozukluklarının engellenmesi sağlanmaktadır. MT-1 ve MT-2 çinkonun fazla alındığı durumlarda, pankreası çinkonun toksik etkilerine karşı koruyabilmektedir (Kim ve ark, 2000). Çinkonun yüksek alımında metallothionein mRNA ve protein ekspresyon düzeyi artar iken, çinkonun düşük alımında bu ekspresyonlar azaldığından hayvanlarda çinko seviyesini belirlemede, biyoyararlılığını ölçmede MT ekspresyonlarından ayrıca faydalanılmaktadır (Sullivan ve ark, 1998; Martínez ve ark, 2004).

Merkezi sinir sisteminde bulunan MT'lerden MT-3, beyinde daha yaygındır. Hipotalamus, hipokampus, serebral kortekste, piamater ve astrositlerde, ependimal hücrelerde, koroid pleksüs epitelinde perivasküler ve periventriküler bölgelerde lokalize olurlar. Merkezi sinir sistemindeki MT'ler metallere karşı koruyucu bariyer fonksiyonlarını yerine getirirler (Ebadı ve ark, 1995).



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan İlaç ve Antioksidan

Çalışmada CP olarak; içerisinde 1g CP'ye eşdeğer 1069.9 mg CP monohidrat bulunan ENDOXAN® (Mccaroll ve ark, 2008) Eczacıbaşı firmasından, intraperitoneal yolla deney hayvanlarına verilen sodyum selenit (Katalog nu; 244485) ise Sigma-Aldrich firmasından temin edildi.

#### 3.2. Deney Hayvanları

Deney ve çalışma dizaynı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 64583101/2016/146 sayılı kararla onaylandı. Çalışmada 48 adet, erişkin, ağırlıkları  $200\pm 10$  gram olan Wistar Albino ırkı dişi ratlar kullanıldı (Resim 1).



Resim 1. Hayvanların genel görünümü ve oluşturulan deney grupları.

Ratlara deney süresi boyunca polikarbonat şeffaf kafeslerde, standart yem ve içme suyu ad libitum olarak verildi. Çalışmamızdaki 48 adet rat, 12;12 aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı 22±2°C ve nemi ise % 50-55 olarak ayarlanmış özel odalarda barındırıldı.

### 3.3. Deney Dizaynı

Deney hayvanları rastgele seçimle 8 gruba ayrılarak ve her bir grupta 6 rat olacak şekilde gruplandırıldı. Deney grupları ve gruplara ilişkin uygulamalar aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirildi (Sabık ve ark, 2009).

Grup I (Kontrol grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına 1 gün süre ile 1 ml/gün dozda olacak şekilde serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup II (CP Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına 1 gün süre ile her hayvana intraperitoneal olarak 200 mg/kg/gün siklofosfamid uygulandı (Resim 2).

Grup III (Sodyum Selenit Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına 1 gün boyunca her hayvana intraperitoneal olarak günlük 1 mg/kg dozda sodyum selenit uygulandı.

Grup IV (Sodyum Selenit Grubu+CP Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına 1 gün süre ile her hayvana günlük 1 mg/kg sodyum selenite ilaveten, 200 mg/kg/gün dozda siklofosfamid intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup V (CP Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına 35 gün süre ile her hayvana intraperitoneal olarak 5 mg/kg/gün siklofosfamid uygulandı.

Grup VI (Sodyum Selenit Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına 35 gün boyunca her hayvana intraperitoneal olarak günlük 1 mg/kg dozda sodyum selenit uygulandı.

Grup VII (Sodyum Selenit Grubu+CP Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına 35 gün süre ile her hayvana günlük 1 mg/kg intraperitoneal sodyum selenite ilaveten, 5 mg/kg/gün dozda siklofosfamid intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup VIII (Kontrol Grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına 35 gün süre ile 1 ml/gün dozda olacak şekilde serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı.



Resim 2. İntraperitoneal olarak siklofosamid verilmesi.

### 3.4. Patolojik İnceleme

Ratların nekropsilerinin ardından alınan karaciğer ve böbrek doku örnekleri %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Daha sonra tespit edilen dokular trimlenerek doku takip kasetlerine konuldu, çeşme suyu ile yıkandıktan sonra doku takip cihazında takip edilerek (Leica TP1020) parafinde bloklandı. Parafin bloklar mikrotom (Leica RM 2135) ile 4-6 mikron kalınlığında kesilerek histopatolojik inceleme hematoxilen-eozin, gerekli görülenler ise yağ doku için oil red O ve bağ doku için Masson's Trichrome ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (Culling ve ark, 1985). Saptanan makroskobik ve mikroskobik bulgular semikantitatif olarak (0; bulgu yok, 1; hafif, 2; orta ve 3; şiddetli) değerlendirildi. Parafin kesitlerden alınan fazla kesitler immunohistokimyasal incelemeler için kullanıldı (Chmielewska ve ark, 2015).

### 3.5. İmmunohistokimyasal İnceleme

İmmunohistokimyasal incelemede, MT ekspresyonu, monoklonal anti-metallothionin clone E9 antikorunun (Thermo Fisher, Monoklonal anti-metallothionin clone-E9, Katalog no; 180133) kullanılacağı streptavidin-biotin immunoperoksidaz yöntemi ile değerlendirildi

(Chmielewska ve ark, 2015). Rutin olarak 6 µm kalınlığında parafin bloklardan hazırlanan kesitler, *poli-L-lisinle* kaplı lamalar üzerine alındı. Bu kesitler 40 °C' lik etüvde on dakika bekletildikten sonra, ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek, fosfat tamponlu solüsyonunda (PBS; pH 7.2) 3x5 dakika boyunca yıkandı. Dokudaki endojenaz peroksidaz aktivitesini baskılamak için %3'lük hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) içeren absolut metanolde oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra doku örneklerim %0,1 proteinaz K solüsyonunda nemli kamerada 37 °C' de 10 dakika bekletildi. Spesifik olmayan antijenik bağlanmaları engellemek için %1'lik bovine serum albumininde nemli kamerada yirmi dakika tutuldu. Daha sonra monoklonal anti-metallothionin (clone E9) primer antikoru ile kaplandı ve +4 C'de bir gece süreyle inkübe edildi. Bunu takiben dokular, kullanıma hazır biyotinlenmiş sekonder antikor (Thermo Fisher, Histostain Plus IHC Kit, Katalog no; 859043) ile kaplandıktan sonra oda ısısında on beş dakika inkübe edildi. Daha sonra kesitler horseradish streptavidin peroksidaz konjugatı ile oda ısısında on beş dakika süreyle inkübe edildikten sonra 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (DAB) (İnvitrogen DAB-Plus Substrate Kit, Katolog no; 00-2020) substratı uygulanarak sonra işlem sonlandırıldı. Harris hematoksilen ile karşıt boyama yapıldıktan sonra dokular alkol serilerinde dehidre edildi. Ksilolde şeffaflandırılan kesitler yapıştırıcı (Entellan) ile kapatıldı. Tüm kesitlerin aynı şartlarda ve prosedürde boyanmasından sonra, sonuçlar ve dokulardaki ekspresyon yoğunlukları ışık mikroskopunda semikantitatif olarak değerlendirildi.

### 3.6. İstatiksel İnceleme

Veriler SPSS 22 (Inc., Chiago, II, USA) yazılımı ile analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uygun veriler için tek yönlü varyans analizi yapılırken, normal dağılıma uygunluk göstermeyenler için Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Tek yönlü varyans analizinde verilerin homojenitesi Levene's testi ile belirlendi. Gruplar arası istatistiksel farklılıklar verilerin homojenitesine göre Tukey ya da Tamhane testi ile belirlendi. 0,05'ten küçük P değeri anlamlı kabul edildi (Conover, 1980). Deney hayvanları üzerinde yapılan uygulamaların hayvanların ortalama canlı ağırlıkları üzerine etkisi tekrarlı ölçümler için iki yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. Gruplar arası istatistiksel farklılıklar GLM prosedürlerinden post-hoc Tukey testi ile belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre P değeri 0,05'ten küçük değerler anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Klinik Bulgular

Çalışmada en belirgin klinik bulgulara CP' nin otuz beş gün boyunca verildiği Grup V'de görüldü. Bu bulgular; yeme karşı ilgisizlik ile ratların hareketlerinde belirgin şekilde azalmalar şeklinde idi. CP' nin sodyum selenit ile birlikte verildiği Grup VII'de ise klinik bulgular daha hafif seyirliydi. Grup V ve Grup VII dışında tüm çalışma gruplarında dikkati çeken herhangi bir klinik bulguya rastlanmadı.

Tüm grupların canlı ağırlık artışları ile karaciğer ve böbreklere ait organ ağırlıkları Tablo 2 ve Tablo 3'te sunuldu.

CP uygulanan Grup V' te ise 1'inci haftadan başlayarak 5'inci haftanın sonuna kadar yapılan canlı ağırlık ölçümlerinde, canlı ağırlık artışlarında istatistiksel olarak farklılık görülmedi. Tüm gruplarda 1'inci haftadan 5'inci hafta sonuna kadar olan canlı ağırlık artışlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (Tablo 2).

Çalışmada yalnızca CP'nin düşük dozda uygulandığı Grup V'de karaciğerin ağırlık artış oranı, diğer tüm gruplara göre düşük bulunmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı değildi. Diğer tüm çalışma grupları arasında ise karaciğer ve böbreklerin organ ağırlıkları oranları yönünden istatistiksel olarak farklılık görülmedi.

| Gruplar   | Haftalar |                           |                           |                           |                           |                           |                           | P     |
|-----------|----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------|
|           | 0        | 1                         | 2                         | 3                         | 4                         | 5                         |                           |       |
|           | n        | $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ |       |
| Grup V    | 6        | 200,66±2,51 <sup>b</sup>  | 203,50±2,68 <sup>a</sup>  | 209,86±4,75 <sup>ab</sup> | 209,78±5,38 <sup>ab</sup> | 217,21±2,31 <sup>ab</sup> | 224,70±2,28 <sup>a</sup>  | 0,001 |
| Grup VI   | 6        | 208,33±8,64 <sup>b</sup>  | 210,15±9,16 <sup>a</sup>  | 205,18±7,93 <sup>a</sup>  | 211,38±7,31 <sup>a</sup>  | 228,01±8,12 <sup>a</sup>  | 231,30±5,96 <sup>a</sup>  | 0,004 |
| Grup VII  | 6        | 209,00±6,25 <sup>a</sup>  | 211,51±6,28 <sup>b</sup>  | 194,75±8,56 <sup>ab</sup> | 206,85±8,81 <sup>ab</sup> | 216,75±9,65 <sup>ab</sup> | 216,98±8,74 <sup>ab</sup> | 0,020 |
| Grup VIII | 6        | 209,31±9,46 <sup>b</sup>  | 210,86±9,65 <sup>b</sup>  | 207,48±8,76 <sup>ab</sup> | 228,30±9,20 <sup>ab</sup> | 235,58±8,31 <sup>ab</sup> | 237,83±8,26 <sup>a</sup>  | 0,003 |

Tablo 2: CP'nin düşük dozda verildiği ratların canlı ağırlıklarının haftalara göre değişimleri. Grup V (CP; 200 mg/kg/gün), Grup VI (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VII (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VIII (Kontrol grubu).

| Gruplar  | Organlar               |                        |                        | Gruplar   | Organlar                |                          |                          |
|----------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
|          | Karaciğer              | Böbrek (sol)           | Böbrek (sağ)           |           | Karaciğer               | Böbrek (sol)             | Böbrek (sağ)             |
| Grup I   | 8,7 ± 0,9 <sup>a</sup> | 0,7± 0,15 <sup>a</sup> | 0,8± 0,10 <sup>a</sup> | Grup VIII | 8,7 ± 1,0 <sup>ab</sup> | 0,80 ± 0,18 <sup>a</sup> | 0,86 ± 0,12 <sup>a</sup> |
| Grup II  | 8,1 ± 0,7 <sup>a</sup> | 0,7± 0,11 <sup>a</sup> | 0,8± 0,10 <sup>a</sup> | Grup V    | 7,6 ± 0,7 <sup>a</sup>  | 0,75 ± 0,05 <sup>a</sup> | 0,78 ± 0,07 <sup>a</sup> |
| Grup IV  | 8,05± 0,5 <sup>a</sup> | 0,8± 0,07 <sup>a</sup> | 0,7± 0,05 <sup>a</sup> | Grup VII  | 9,4 ± 0,8 <sup>b</sup>  | 0,91 ± 0,21 <sup>a</sup> | 0,96 ± 0,31 <sup>a</sup> |
| Grup III | 8,2± 0,7 <sup>a</sup>  | 0,7± 0,05 <sup>a</sup> | 0,7± 0,05 <sup>a</sup> | Grup VI   | 9,5 ± 1,3 <sup>b</sup>  | 0,81 ± 0,04 <sup>a</sup> | 0,86 ± 0,08 <sup>a</sup> |
| P        | < 0,05                 |                        |                        |           |                         |                          |                          |

\*a, b, c ; aynı sütundaki istatistiksel farklılık ( P<0,05).

†P: Bu değer tek yönlü varyans analizinden elde edilen değeri ifade etmektedir.

Tablo 3: CP'nin yüksek ve düşük dozda verildiği ratların organ ağırlıkları. Grup I (Kontrol grubu), Grup II (CP; 200 mg/kg/gün), Grup III (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup IV (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün). Grup V (CP; 200 mg/kg/gün), Grup VI (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VII (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VIII (Kontrol grubu).

## 4.2. Patolojik Bulgular

### 4.2.1. Makroskopik Bulgular

Çalışmada makroskopik bulguya yalnızca CP'nin yüksek dozda verildiği Grup II'de bulunan hayvanlarda saptandı. Bu olgularda karaciğer ve böbreklerde makroskopik olarak güçlükle seçilebilen hiperemi ve konjesyonlar görüldü. Ayrıca her iki organın kesit yüzleri ödemliydi. Grup IV'de ise hiperemi ve konjesyonların şiddeti daha hafif seyirliydi. Çalışmada bulunan diğer tüm gruplarda dikkati çeken herhangi bir makroskopik bulguya rastlanmadı.

### 4.2.2. Mikroskopik Bulgular

CP'nin yüksek dozda verildiği gruplarda karaciğer ve böbreklere ait mikroskopik bulguların şiddeti ve dağılımları Tablo IV ve Tablo V' de, CP'nin düşük dozda uygulandığı gruplara ait mikroskopik bulguların dağılımı ve şiddeti Tablo VI ve Tablo VII'de sunuldu.

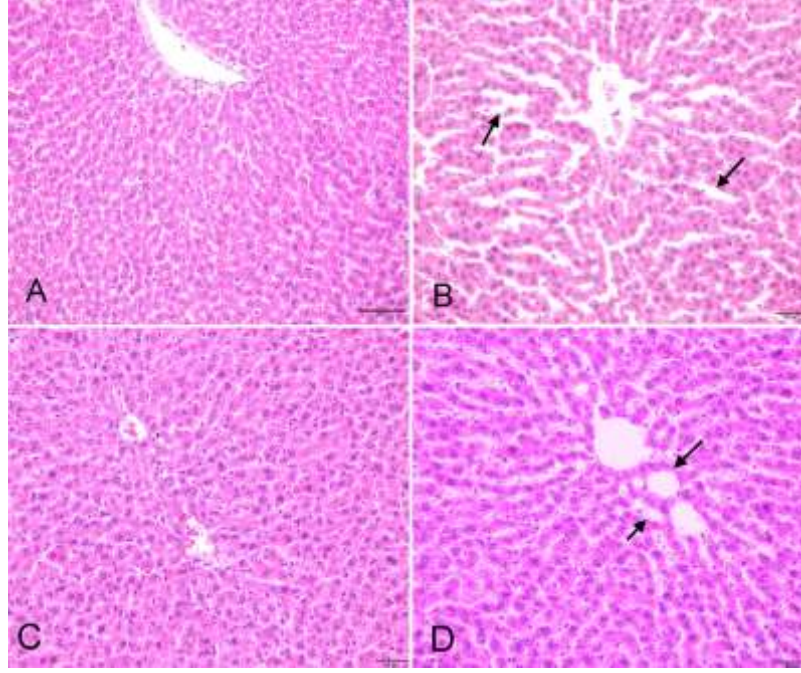
CP'nin yüksek dozda uygulandığı grupların karaciğerlerinde en yaygın ve şiddetli mikroskopik bulgulara Grup II'de görüldü. CP'nin sodyum selenit ile birlikte verildiği grupta ise mikroskopik bulgular daha hafif seyirliydi. Gözlenen lezyonlar ise; remark kordonlarının düzeninde bozulma, sinuzoidlerde dilatasyon (Resim 3), hiperemi, konjesyon, hepatositlerde dejenerasyon (Resim 4), hepatositlerde tek hücre nekrozları şeklindeydi. Ayrıca bazı olgularda hepatositlerin sitoplazmalarında keskin kenarlı yağ vakuolu benzeri yapılar dikkati çekti. Oil red O ile boyamalarda bu vakuollerin yağ vakuolu oldukları görüldü. Dilatasyonlar genellikle vena sentralislere yakın alanlarda görüldü. Dejenerasyonlar ile birlikte gözlenen tek hücre nekrozları ise düzensiz bir yerleşim göstermekteydi. CP'nin tek doz olarak uygulandığı grupta sinuzoidlerde dilatasyon, hiperemi, dejenerasyon, nekroz ve yağlanma oranları kontrol ve yalnızca selenyum verilen gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $P<0,05$ ). Bu bulgulardan sinuzoidlerde dilatasyon ve hiperemi oranları ise CP'nin selenyum ile birlikte verildiği Grup IV'e göre yüksek olmasına karşın fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ayrıca Grup IV'te hepatositlerde gözlenen dejenerasyon, nekroz ve yağlanma oranları Grup II'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P<0,05$ ).

| Karaciğer |                          |                          |                          |                          |                          |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Gruplar   | Histopatolojik Bulgular  |                          |                          |                          |                          |
|           | Sinuzoidlerde Dilatasyon | Hiperemi                 | Dejenerasyon             | Nekroz                   | Yağlanma                 |
| Grup I    | 0,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 0,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 0,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 0,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 0,00 ± 0,00 <sup>a</sup> |
| Grup II   | 1,75 ± 0,39 <sup>b</sup> | 1,18 ± 0,30 <sup>b</sup> | 3,0 ± 00,0 <sup>c</sup>  | 2,46 ± 0,08 <sup>c</sup> | 0,08 ± 0,04 <sup>b</sup> |
| Grup III  | 0,01 ± 0,04 <sup>a</sup> | 0,10 ± 0,06 <sup>a</sup> | 0,15 ± 0,16 <sup>a</sup> | 0,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 0,00 ± 0,00 <sup>a</sup> |
| Grup IV   | 1,70 ± 0,20 <sup>b</sup> | 1,08 ± 0,17 <sup>b</sup> | 1,76 ± 0,22 <sup>b</sup> | 1,40 ± 0,25 <sup>b</sup> | 0,00 ± 0,00 <sup>a</sup> |
| <i>P</i>  | <0,05                    |                          |                          |                          |                          |

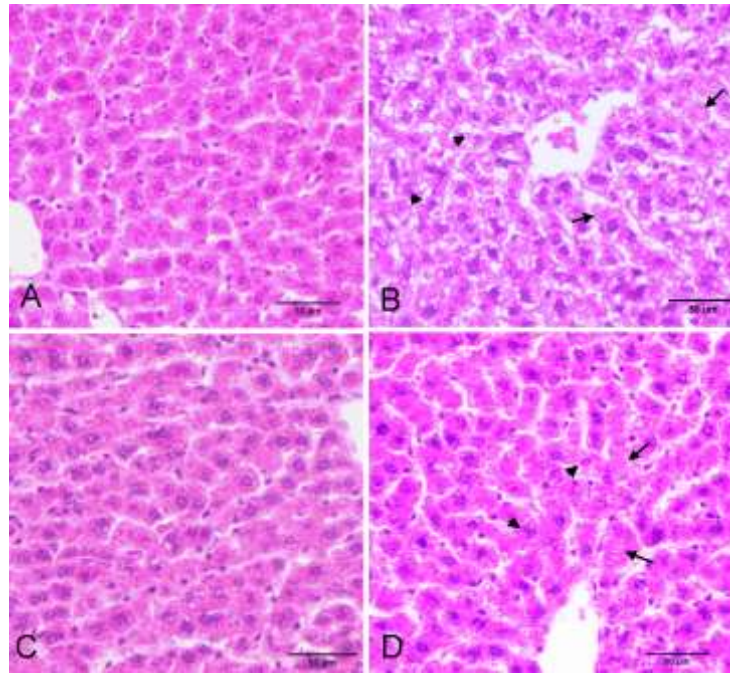
a, b, c; aynı sütundaki istatistiksel farklılık, \*, 0,05

Tablo 4: CP'nin yüksek dozda verildiği ratların karaciğerlerine ait mikroskopik bulguların semikantitatif sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi. Grup I (Kontrol grubu), Grup II (CP; 200 mg/kg/gün), Grup III (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup IV (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün).





Resim 3. Karaciğer. Sinüzoidlerde dilatasyon (oklar). A: Grup I (Kontrol grubu), B: Grup II (CP; 200 mg/kg/gün), C: Grup III (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), D: Grup IV (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün). HE.



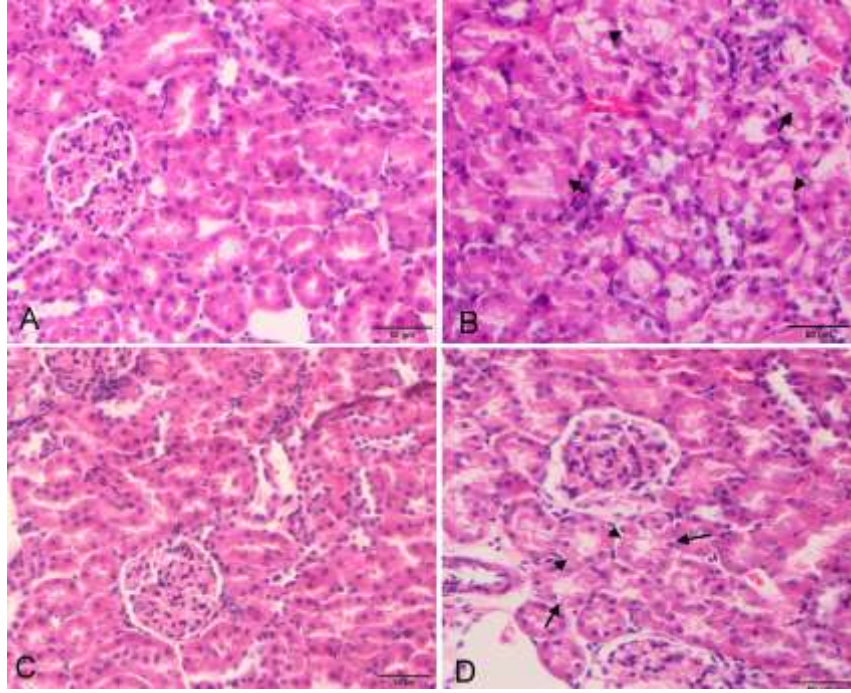
Resim 4. Karaciğer. Hepatositlerde dejenerasyon (okbaşları) ve nekrozlar (oklar). A: Grup I (Kontrol grubu), B: Grup II (CP; 200 mg/kg/gün), C: Grup III (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), D: Grup IV (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün). HE.

CP'nin yüksek dozda uygulandığı gruplarda böbreklerdeki en Şiddetli bulgular Grup II'de saptandı. Bu grupta en yaygın gözlenen mikroskobik bulgular; tubulus epitellerinde dejenerasyonlar ve nekrozlar idi (Resim 5). Kanamalar hem kortikal hemde medullar yerleŐimliydi. Tubuluslarda dilatasyon oranı yalnızca CP uygulanan grupta yüksek olmasına rağmen kontrol, yalnızca sodyum selenit verilen grup ve CP'nin sodyum selenit ile birlikte verildiği gruplara göre istatikselsel olarak anlamlı değildi. CP'nin sodyum selenit ile birlikte verildiği grupta dejenerasyon ve nekroz oranları yalnızca CP'nin verildiği gruba göre düşük, kontrol ve yalnızca sodyum selenit verilen gruplara göre ise istatikselsel olarak anlamlı bir Şekilde yüksek bulundu ( $P<0,05$ ).

| Böbrek   |                           |                           |                           |                           |                           |                                      |
|----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| Gruplar  | Histopatolojik Bulgular   |                           |                           |                           |                           |                                      |
|          | Tubuluslarda dilatasyon   | Glomerular konjesyon      | Kanama                    | Dejenerasyon              | Nekroz                    | Tubulus bazal membranlarında ayrılma |
| Grup I   | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup>            |
| Grup II  | 0,35 ± 0,50 <sup>a</sup>  | 0,50 ± 0,08 <sup>c</sup>  | 0,56 ± 0,45 <sup>b</sup>  | 2,83 ± 0,24 <sup>c</sup>  | 2,75 ± 0,29 <sup>c</sup>  | 2,10 ± 0,55 <sup>c</sup>             |
| Grup III | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup>            |
| Grup IV  | 0,16 ± 0,26 <sup>a</sup>  | 0,30 ± 0,10 <sup>b</sup>  | 0,26 ± 0,29 <sup>ab</sup> | 1,68 ± 0,14 <sup>b</sup>  | 1,81 ± 0,38 <sup>b</sup>  | 1,51 ± 0,24 <sup>b</sup>             |
| <i>P</i> | <0,05                     |                           |                           |                           |                           |                                      |

a, b, c; aynı sütündeki istatistiksel farklılık , \*; 0,05

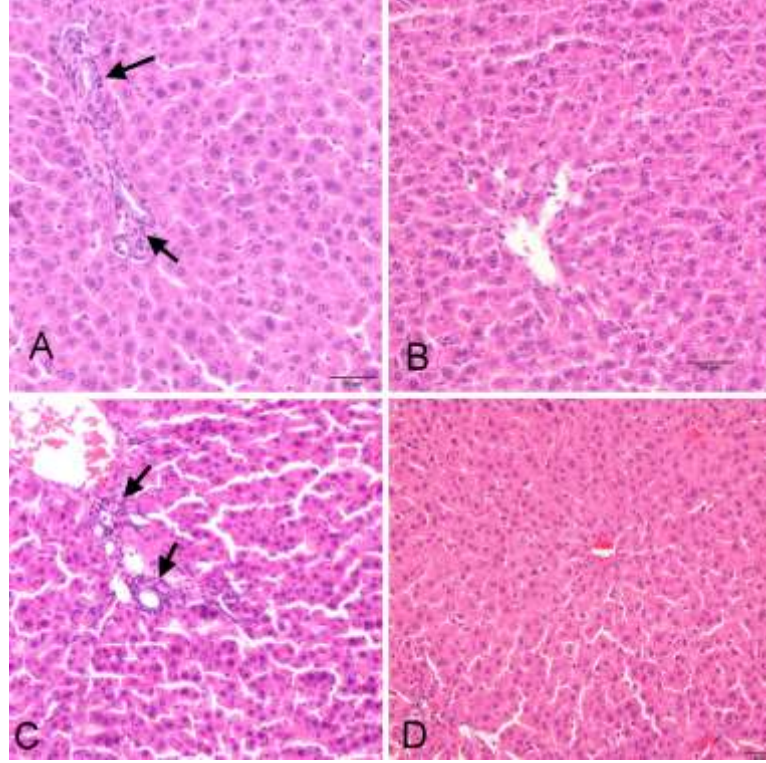
Tablo 5: CP'nin yüksek dozda verildiği ratların böbreklerine ait mikroskopik bulguların semikantitatif sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi. Grup I (Kontrol grubu), Grup II (CP; 200 mg/kg/gün), Grup III (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup IV (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün).



Resim 5. Böbrek. Tubulus epitellerinde dejenerasyon (oklar) ve nekroz (okbaşları). A: Grup I (Kontrol grubu), B: Grup II (CP; 200 mg/kg/gün), C: Grup III (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), D: Grup IV (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün). HE.

CP'nin 35 gün boyunca düşük dozda uygulandığı gruplarda en şiddetli ve yaygın bulgular Grup V'de saptandı. CP'nin tek dozda uygulandığı gruplarda gözlenen bulgulara ilaveten, safra kanallarında hiperplazi, hepatositlerin sitoplazmalarında yağ vakuolleri, karyomegaliden oluşan çekirdek değişiklikleri ve hücre infiltrasyonları ile bağ doku benzeri proliferasyonları şeklindeydi (Resim 6). Yapılan Masson's Trichrome boyamada bu proliferasyonların bağ doku olduğu saptandı. Bu proliferasyonlar; hem kiernan aralıklarında hem de subkapsular alanlarda görüldü. Hücre infiltrasyonları az sayıda mononükleer hücrelerden oluşmuştu. Hepatositlerin çekirdeklerinde gözlenen şişkinlik, gözlenen diğer histopatolojik bulgulardandı. Bazı alanlarda hepatositlerin çekirdeği normalin birkaç kat büyüklüğünde idi.

Karaciğerde yalnızca CP verilen grupta tanımlanan tüm patolojik bulguların oranlarının diğer gruplara göre yüksek oldukları görüldü. CP ile birlikte sodyum selenit verilen Grup VII'de tanımlanan patolojik bulguların oranları yalnızca CP'nin verildiği Grup V'e göre düşük olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kontrol grubu ile yalnızca sodyum selenit verilen gruplarda ise patolojik bulguların oranları diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu.



Resim 6. Karaciğer. Safra kanalı epitellerinde hiperplazi (oklar) A: Grup V (CP; 5 mg/kg/gün), B: Grup VI (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), C: Grup VII (CP; 5 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), D: Grup VIII (Kontrol grubu). HE.



| Karaciğer |                           |                           |                           |                           |                           |                                       |                           |                           |                           |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Gruplar   | Histopatoloji Bulgular    |                           |                           |                           |                           |                                       |                           |                           |                           |
|           | Sinuzoidlerde Dilatasyon  | Hiperemi                  | Dejenerasyon              | Nekroz                    | Yağlanma                  | Safra kanalı epitellerinde hiperplazi | Hücre İnfiltrasyonları    | Çekirdek Değişiklikleri   | Bağdoku Artışı            |
| Grup V    | 1,40 ±0,18 <sup>b</sup>   | 0,43± 0,24 <sup>b</sup>   | 1,18 ±0,33 <sup>b</sup>   | 0,7 ± 0,24 <sup>b</sup>   | 0,11± 0,04 <sup>b</sup>   | 0,30± 0,15 <sup>b</sup>               | 0,26 ± 0,15 <sup>b</sup>  | 0,48± 0,09 <sup>b</sup>   | 0,25 ±0,18 <sup>b</sup>   |
| Grup VI   | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup>             | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> |
| Grup VII  | 1,23 ±0, 13 <sup>b</sup>  | 0,33 ±0,20 <sup>b</sup>   | 1,03± 0,18 <sup>b</sup>   | 0,55 ±0,20 <sup>b</sup>   | 0,06 ±0,12 <sup>b</sup>   | 0,25 ±0,10 <sup>b</sup>               | 0,16 ± 0,15 <sup>ab</sup> | 0,38 ±0,09 <sup>b</sup>   | 0,16 ± 0,17 <sup>ab</sup> |
| Grup VIII | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup>             | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> |
| <i>P</i>  | <i>&lt;0,05</i>           |                           |                           |                           |                           |                                       |                           |                           |                           |

a, b, c ; aynı sütundaki istatistiksel farklılık \*; P<0,05.

Tablo 6: CP'nin düşük dozda verildiği ratların karaciğerlerine ait mikroskopik bulguların semikantitatif sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi. Grup V (CP; 200 mg/kg/gün), Grup VI (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VII (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VIII (Kontrol grubu).

Böbrekte yalnızca CP verilen grupta tanımlanan tüm patolojik bulguların oranlarının diğer gruplara göre yüksek oldukları görüldü. CP'nin 35 gün boyunca düşük dozda uygulandığı gruplarda en belirgin histopatolojik bulgular Grup V' de ve daha az olarak da Grup VII'de saptandı. Bu bulgular; tubulus epitellerinde dejenerasyon, nekroz, tubuluslarda dilatasyon ve tubulus bazal membranlarında ayrılma idi. CP ile birlikte sodyum selenit verilen Grup VII'de tanımlanan patolojik bulguların oranları yalnızca CP'nin verildiği Grup V'e göre düşük görünmesine rağmen istatistiksel olarak farklılık anlamlı değildi. Kontrol grubu ile yalnızca sodyum selenit verilen gruplarda ise patolojik bulguların oranları diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P<0,05$ ).

| Böbrek    |                           |                           |                           |                           |                           |                                      |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| Gruplar   | Histopatolojik Bulgular   |                           |                           |                           |                           |                                      |
|           | Tubuluslarda dilatasyon   | Kanama                    | Glomerular konjesyon      | Dejenerasyon              | Nekroz                    | Tubulus bazal membranlarında ayrılma |
| Grup V    | 0,18±0,24 <sup>a</sup>    | 0,23±0,20 <sup>b</sup>    | 0,23±0,08 <sup>b</sup>    | 2,01±0,09 <sup>b</sup>    | 0,98±0,16 <sup>b</sup>    | 1,25±0,13 <sup>b</sup>               |
| Grup VI   | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup>            |
| Grup VII  | 0,08±0,13 <sup>a</sup>    | 0,13±0,19 <sup>ab</sup>   | 0,18±0,07 <sup>b</sup>    | 1,88±0,14 <sup>b</sup>    | 1,41±0,73 <sup>b</sup>    | 1,15±0,13 <sup>b</sup>               |
| Grup VIII | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 00,00 ± 0,00 <sup>a</sup>            |
| <i>P</i>  | <0,05                     |                           |                           |                           |                           |                                      |

\*a, b, c ; aynı sütundaki istatistiksel farklılık ( P<0,05).

Tablo 7: CP'nin düşük dozda verildiği ratların böbreklerine ait mikroskopik bulguların semikantitatif sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi. Grup V (CP; 5 mg/kg/gün), Grup VI (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VII (CP; 5 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VIII (Kontrol grubu).



### 4.2.3. İmmunohistokimyasal Bulgular

CP'nin yüksek ve düşük dozlarda verildiği grupların karaciğer ve böbreklerinde gözlenen MT'ye ait immunoistokimyasal bulguların semikantitatif değerlendirme sonuçları Tablo 8'de özetlendi.

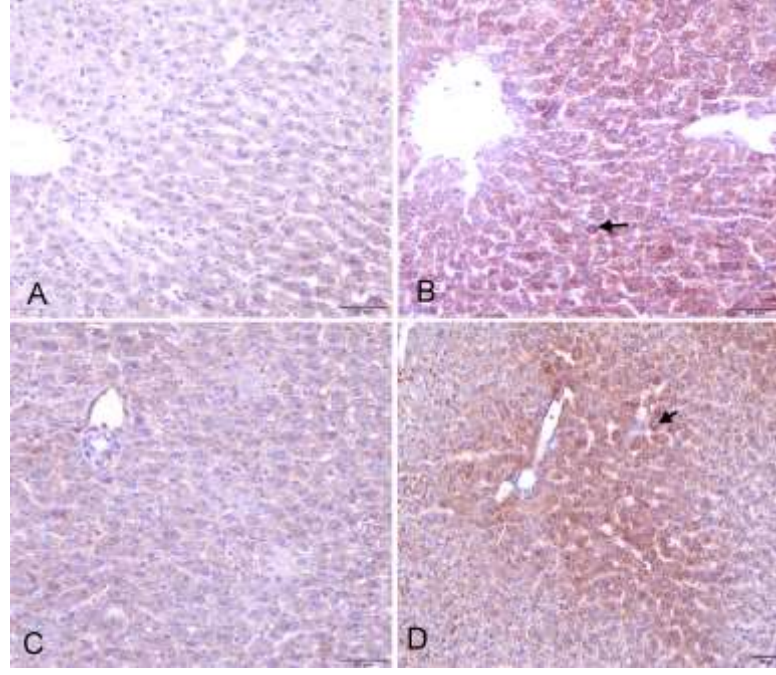
CP'nin yüksek dozda verildiği gruplarda, karaciğer (Resim 7) ve böbreklerde (Resim 8) MT ekspresyon düzeyi en yoğun olarak yalnızca CP verilen grupta görüldü. CP ile birlikte sodyum selenit verilen grupta MT ekspresyon düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P<0,05$ ).

CP'nin düşük dozlarda 35 gün boyunca uygulandığı gruplarda karaciğer (Resim 9) ve böbreklerde (Resim 10) MT ekspresyon düzeyi yalnızca CP verilen grupta oldukça yüksek bulundu. Bu farklılık kontrol ve yalnızca sodyum selenit verilen gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olmasına karşın CP ile birlikte yalnızca sodyum selenit verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $P<0,05$ ).

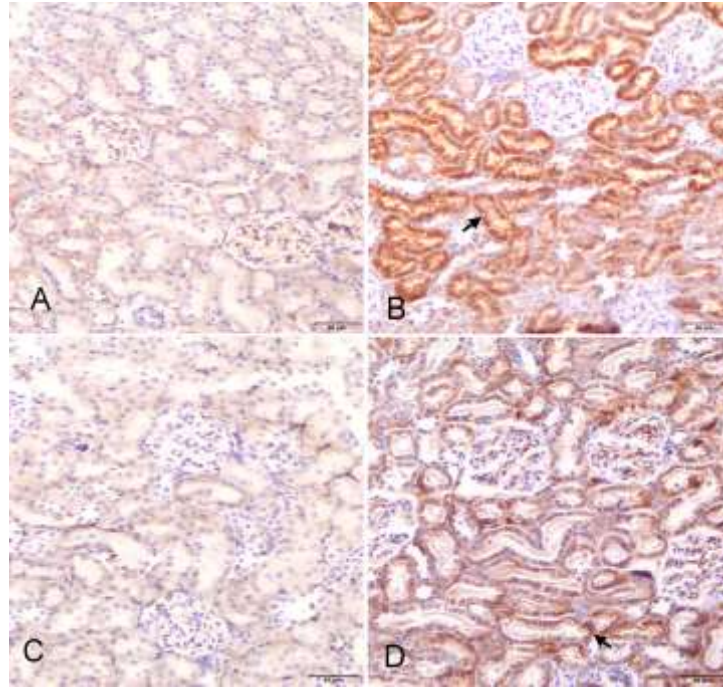
| İmmunohistokimyasal Bulgular |                       |                       |           |                       |                        |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|-----------------------|------------------------|
| Gruplar                      | Organlar              |                       | Gruplar   | Organlar              |                        |
|                              | Karaciğer             | Böbrek                |           | Karaciğer             | Böbrek                 |
| Grup I                       | 4,3±0,2 <sup>a</sup>  | 5,0±0,2 <sup>a</sup>  | Grup V    | 77,9±1,1 <sup>b</sup> | 78,8±0,9 <sup>b</sup>  |
| Grup II                      | 84,1±3,2 <sup>c</sup> | 85,7±3,3 <sup>c</sup> | Grup VI   | 4,66±0,6 <sup>a</sup> | 5,4±0,4 <sup>a</sup>   |
| Grup III                     | 5,5±0,3 <sup>a</sup>  | 6,2±0,2 <sup>a</sup>  | Grup VII  | 76,5±1,6 <sup>b</sup> | 78,00±0,4 <sup>b</sup> |
| Grup IV                      | 41,8±1,0 <sup>b</sup> | 42,7±0,9 <sup>b</sup> | Grup VIII | 4,3±0,2 <sup>a</sup>  | 5,4±0,2 <sup>a</sup>   |
| <i>P</i>                     | <0,05                 |                       | <0,05     |                       |                        |

*a, b, c ve d; aynı sütundaki istatistiksel farklılık \*; 0,05*

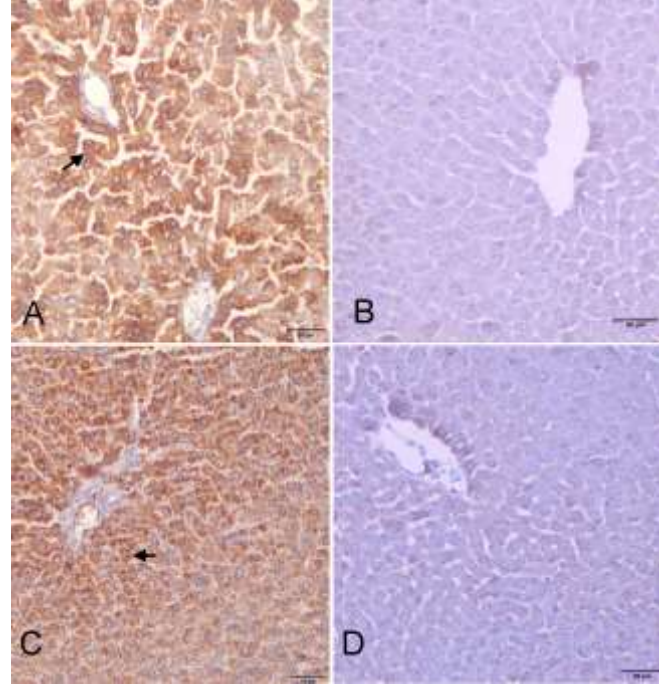
Tablo 8: CP'nin yüksek ve düşük dozlarda verildiği metollothionin antikoruna ait immunohistokimyasal bulguların semikantitatif sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi. Grup I (Kontrol grubu), Grup II (CP; 200 mg/kg/gün), Grup III (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup IV (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün). Grup V (CP; 5 mg/kg/gün), Grup VI (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VII (CP; 5 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VIII (Kontrol grubu).



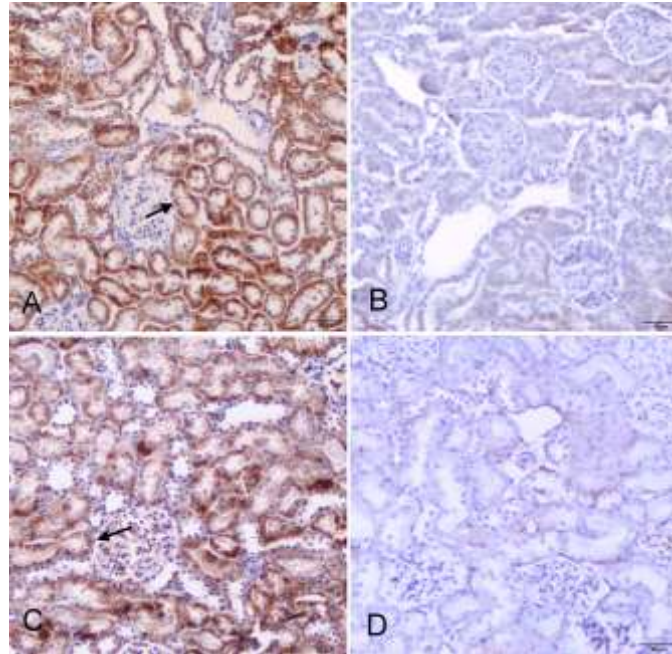
Resim 7. CP'nin yüksek dozda verildiği ratların karaciğerlerinde MT ekspresyonları (oklar).  
A: Grup I (Kontrol grubu), B: Grup II (CP; 200 mg/kg/gün), C: Grup III (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), D: Grup IV (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün).



Resim 8. CP'nin yüksek dozda verildiği ratların böbreklerinde ait MT ekspresyonları(oklar).  
A: Grup I (Kontrol grubu), B: Grup II (CP; 200 mg/kg/gün), C: Grup III (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), D: Grup IV (CP; 200 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün).



Resim 9. CP'nin düşük dozda verildiği ratların karaciğerlerine ait MT ekspresyonları(oklar). Grup V (CP; 5 mg/kg/gün), Grup VI (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VII (CP; 5 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), Grup VIII (Kontrol grubu).



Resim 10. CP'nin düşük dozda verildiği ratların böbreklerine ait MT ekspresyonları (oklar). A: Grup V (CP; 5 mg/kg/gün), B: Grup VI (Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), C: Grup VII (CP; 5 mg/kg/gün + Sodyum selenit; 1mg/kg/gün), D: Grup VIII (Kontrol grubu).

## 5. TARTIŞMA

Sunulan bu çalışmada sodyum selenit ile birlikte farklı konsantrasyonlarda kullanılan CP'nin karaciğer ve böbrek dokularında MT ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri patolojik bulguları ile birlikte kapsamlı olarak değerlendirildi.

CP nitrojen mustard grubundan alkilleyici bir antineoplastik bir ilaç olup (Mccaroll ve ark, 2008), tek başına ya da diğer antineoplastik ajanlar ile birlikte lösemi, ovaryum tümörleri, meme tümörleri, lenfoma ve nöroblastom gibi birçok tümörün tedavisi ile sistemik lupus eritematosus ve romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkların tedavilerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Haas ve ark, 1987; Takada ve ark, 2004; Kumar ve Kuttan, 2005; Matsuoka ve ark, 2008). CP ayrıca kemik iliği transplantasyonlarından önce yapılan immunsupresor tedavide de en çok tercih edilen kimyasal ajanlardandır (Mccaroll ve ark, 2008). Beşeri ve veteriner hekimlikte tümörlerin kemoterapötik ilaçlara karşı gösterdikleri direnç veya bu ilaçların kullanım dozlarının yetersiz kaldığı durumlarda başta CP olmak üzere kemoterapide kullanılan birçok ilacın yüksek dozda kullanımları gerekmektedir (Cavalletti ve ark, 1986; Kaya ve ark, 2007). Bu kimyasal ajanlardan CP yüksek terapötik etkinliğin artırılmasını kısıtlayan en önemli etken ise karaciğer ve böbreklerde oluşturduğu toksik etkilerdir (Lawrence ve ark, 1975; Droller ve ark, 1982; Pool ve ark, 1988; Fraiser ve ark, 1991; Xu ve Malave, 2001; Schimmel ve ark, 2004). CP'nin toksik etkisi aktif metaboliti olan ACR ile ilgilidir. CP'nin bu toksik etkisinin ise metobolize olması sonucu ortaya çıkan akreolinin antioksidan savunma sistemlerini yıkımlayarak yüksek miktarda serbest radikal oluşumlarına neden olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir (Mccaroll ve ark, 2008). Oksidatif stres, organizmadaki birçok patolojik olayda rol almakla birlikte, bu evrelerde meydana gelen fazla miktardaki serbest radikaller antioksidan sistem tarafından etkisizleştirilerek bir denge oluşturmaktadır. Ortaya çıkan bu dengenin bozulması durumunda ise patolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır (Freeman ve Crapo, 1982; Kılınç, 1985; Bulkley, 1989; Aruoma ve ark, 1991; Valko ve ark, 2006). Bu serbest radikallerin oldukça toksik bir etki göstererek hücrelerdeki karbonhidratları, lipidleri, proteinleri ve DNA'yı oksitleyerek, peroksidasyona ve modifikasyona neden olduğu bildirilmiştir (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Cheesman ve Slater, 1984). Sunulan bu çalışmada hem yüksek dozda hem de düşük dozda 35 gün boyunca verilen CP'nin daha önceki çalışmalarla (Senthilkumar ve ark, 2006; Avcı ve ark, 2012; Cuce ve ark, 2015) uyumlu olarak karaciğerlerde sinuzoidlerde dilatasyon, hiperemi, dejenerasyon, nekroz ve yağlanma oluşturduğu gözlenmiştir. Elde ettiğimiz histopatolojik bulgular CP'nin

FAM ile başlayan daha sonra ortaya çıkan serbest radikallerin oluşturduğu toksik etki ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada böbreklerde yüksek ve düşük dozda erilen CP'nin daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak kanama, dejenerasyon, glomeruler konjesyon, tubulus bazal membranlarında ayrılma ve nekroz oluşturduğu gözlemlendi (Philips ve ark, 1961; Senthilkumar ve ark, 2006; Abraham ve ark, 2007). Çalışmada tanımlanan histopatolojik bulgular CP' in toksik etkisinin akreolinin antioksidan savunma sistemlerini yıkımlayarak yüksek miktarda serbest radikal oluşumlarına neden olduğu bilgisini doğrular nitelikteydi (Mccaroll ve ark, 2008). Bu bağlamda çalışmamızda siklofosfamidin daha yüksek dozda kullanılmasına olanak sağlamak amacıyla kuvvetli antioksidan özelliklere sahip sodyum selenit kullanılması tercih edildi.

Dokulardaki selenoproteinler Se'nin biyolojik olarak fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesini sağlar. Selenoproteinler eikozonoid sentezini ve yangıyı modüle ederlerken DNA, lipidler ve lipoproteinler gibi biyomoleküllerde oksidatif hasarın daha da ilerlemesini önlemektedir (Rayman, 2000). Se, glutatyon peroksidaz enzim sisteminin esansiyel bir parçası olup; glutatyon, glutatyon peroksidazın koenzimidir ve SOR'un giderilmesinde anahtar rolü oynamaktadır. DNA sentezinde nükleotidlerin redüksiyonunu, antioksidan sistemlerin yenilenmesini ve hücrenin proliferasyonu için kritik olan hücre içi redoks durumunu sağlamaktadır. Endotel hücrelerini peroksinitrit ile oluşan hasara karşı korur (Acar, 2015). Se'nin lipid peroksidasyonunu baskılayarak hücre zarını koruyucu etkisinin ve sisplatin gibi sitotoksik ajanların toksik yan etkilerini azalttığını bildiren araştırmalar mevcuttur (Ilio ve ark, 1987; Yang ve ark, 2000). CP'nin oluşturduğu hepatotoksisite üzerine Se'nin koruyucu etkinliğiyle ilgili yapılan bir çalışmada (Bhattacharjee ve ark, 2014), CP'nin indüklediği toksisiteye karşı Se'nin koruyucu etkinliği histopatolojik olarak doğrulanarak bildirilmiştir. Bir başka çalışmada (Acar, 2015) CP ile birlikte uygun Se'nin karaciğer dokusunu oksidatif hasara karşı koruduğu, Se'nin karaciğerde dejenerasyon ve nekroz gibi histopatolojik bulguların şiddetini azalttığı bildirilmiştir. Sunulan bu çalışmada yüksek dozda CP+Se uygulanan grupta karaciğer dokusundaki patolojik bulguların şiddetinin yüksek dozda yalnızca CP verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı görülmüştür. Ayrıca bu durum karaciğerde MT eksspresyon düzeyi ile desteklenmiştir. Karaciğerde bu patolojik bulguların şiddetinin ve dağılımının azalması sodyum selenitin oksidatif stres hasarını azaltması ile ilgili olabileceği düşünüldü. Çalışmada CP'nin düşük dozda sodyum selenit ile birlikte verilen grupta histopatolojik bulguların yalnızca CP verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olmaması sodyum selenitin düşük dozlarda ve uzun süreli kullanılması gereken durumlarda etkili olmadığı görüldü. Ayrıca immunohistokimsal olarak

hem karaciğerde MT ekspresyon düzeyinin histopatolojik bulgular ile birlikte yüksek oluşu bu görüşü destekler nitelikte idi.

Tüm gruplara ait ratların böbreklerinde mikroskopik bulguların incelendiği bu çalışmada, en yaygın ve şiddetli bulgular yalnızca CP'nin yüksek ve düşük dozlarda uygulandığı gruplarda gözlemlendi. Bu bulgular CP ile ratlarda yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermekteydi (Senthilkumar ve ark, 2006). Çalışmada CP ile birlikte sodyum selenitin uygulandığı gruplarda saptanan mikroskopik değişiklikler yalnızca CP'nin yüksek dozda uygulandığı gruba göre düşük bulundu. Bu durum sodyum selenitin CP'nin yüksek dozda uygulandığı durumlarda böbrekler üzerinde histomorfolojik düzeyde koruyucu bir özellik gösterdiğini ortaya koydu. Ayrıca immunohistokimyasal olarak da MT ekspresyon düzeyinin düşük olması bu görüşü destekler nitelikte idi. Çalışmada düşük dozda CP ile birlikte sodyum selenitin uygulandığı grupta ise saptanan mikroskopik değişikliklerin yalnızca CP'nin düşük dozda uygulandığı gruba göre düşük bulundu. Ancak sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu sebeple sodyum selenitin CP'nin uzun süreli ve düşük dozlarında kullanılması gereken durumlarda, doku düzeyinde koruyucu bir özellik göstermediği görüldü. Ayrıca immunohistokimyasal olarak MT ekspresyon düzeyinin de mikroskopik bulgular ile korelasyon göstermesi bu durumu destekler nitelikte idi. Sodyum selenitin CP'nin düşük dozda kullanıldığı böbreklerde etkili bir koruyucu özellik göstermemesi ile ilgili olarak CP'nin dozunun uzun süreli kullanılması ile ilgili olabileceği kanısına varıldı.

Metallotiyoninler Zn ve Cu gibi temel metallerin homeostasisi ile Cu ve Cd gibi ağır metallerin detoksifikasyonunu sağlayan stres proteinleridir (Viarengo ve Nott 1993). Çeşitli sebeplerle meydana gelen hidroksil radikaller ve oksijen serbest radikallerin oksidatif etkilerine karşı hücre hasarlanmalarını önlemesi nedeniyle doğal anti-oksidatif proteinler olarak devreye girdikleri ifade edilmiştir (Zhou ve ark, 2002). Merkezi sinir sisteminde bol miktarda bulunan MT' ler; vücutta meydana gelecek iz element yetersizliklerinde ve ağır metal toksikasyonlarında, bu metallerle kompleks oluşturarak beyinde bir bariyer görevi yaparlar (Ebadi ve ark, 1995). Gebelik dönemlerinde; annede ve yavruda iz element kullanılabilirliğinin sağlanmasını ve ağır metallerin tutulumunu sağlayarak yavruda meydana gelebilecek teratojenik etkilerin minimal düzeye indirilmesini sağlamaktadırlar (Philcox ve ark, 2000). Hücre bölünmelerinde etkili olan Zn ve Cu gibi iz elementlerle kompleks yaparak hücre proliferasyonuna direkt olarak etkileri bulunmaktadır. Beyin, pankreas, barsak, karaciğer ve böbrekte meydana gelen yangısal hastalıkların önlenmesinde ve bu hastalıkların tedavisinde MT' lerin önemli etkileri vardır. Bu nedenle organizmanın metabolik faaliyetlerinin sürdürülebilmesinde tedavi amaçlı bu proteinlerin kullanımının faydalı olacağı



bildirilmektedir (Şimşek ve ark, 2007). Bu bağlamda özellikle yüksek dozda CP ile birlikte verilen sodyum selenitin, karaciğer ve böbrek dokusunda histopatolojik bulguların şiddetini istatistiksel olarak belirgin bir oranda düşürmüş olması ile birlikte her iki dokuda parafin kesitlerde immunohistokimyasal olarak MT ekspresyon düzeylerini de belirgin bir ölçüde düşürdüğü görüldü (Chmielewska ve ark, 2015). Bu durum bize CP'nin yüksek dozda uygulandığı durumlarda MT'lerin karaciğer ve böbrekte bir stres protein belirteci olarak da kullanılabilceğini düşündürdü (Zambenedetti ve ark, 1998; Candan ve ark, 2016).

Sunulan bu çalışmada CP'nin yüksek dozda kullanılması gereken durumlarda karaciğer ve böbrekte oluşan toksik etkilerine karşı sodyum selenitin, MT ekspresyon düzeyi bakımından etkin olduğu görüldü. Bu sebeple CP yüksek dozda kullanıldığında sodyum selenitin alternatif destekleyici olarak kullanılabilceği görüldü. CP'nin düşük dozda uzun süreli kullanılması gereken durumlarda karaciğer ve böbrek üzerinde ise sodyum selenitin, MT ekspresyon düzeyleri bakımından etkili olmaması nedeniyle alternatif bir antioksidan olarak kullanılmayacağı sonucuna varıldı.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Son yıllarda antineoplastik ilaçlardan CP başta olmak üzere birçok antineoplastik kimyasal ajanın toksik etkilerini önleyerek bu ilaçların daha yüksek dozda ya da düşük dozlarda uzun süre kullanılmasına olanak sağlayan yöntemlerin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Bu ilaçlar yüksek dozda ve sık olarak kullanıldıklarında, elde edilmek istenen tedavi etkileri ortadan kalkarak zararlı yan etkiler oluşturmaktadırlar. Çalışmada yüksek dozda yalnızca CP kullanılan grupta en şiddetli patolojik bulguların görülmesi CP'nin karaciğer ve böbrekler üzerine oldukça toksik etki gösterdiği sonucuna varıldı. İmmunohistokimyasal olarak da MT ekspresyon düzeyinin karaciğer ve böbrekte yüksek oluşu bu görüşü destekler nitelikte idi. CP ile birlikte eş zamanlı olarak sodyum selenit verilen grupta hem histopatolojik bulgularının şiddetinin düşük oluşu hemde immunohistokimyasal olarak MT ekspresyon düzeyinin yalnızca CP verilen gruba göre düşük oluşu sodyum selenitin karaciğer ve böbrekte CP'nin yüksek dozda kullanılması gereken durumlarda kullanılabileceği sonucuna varıldı. Ayrıca CP'nin yüksek dozlarda kullanıldığı durumlara karaciğer ve böbrekte MT'nin immunohistokimyasal olarak bir hasar parametresi olarak da kullanılabileceği düşünüldü.

Çalışmada, 35 gün boyunca sodyum selenitin CP ile birlikte verildiği grubun karaciğer ve böbreklerinde hem histopatolojik bulguların şiddeti ve dağılımı hem de MT'nin ekspresyon düzeyinin, düşük dozda CP verilen gruba göre düşük olmasına rağmen sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. Bu durum, sodyum selenitin CP ile birlikte uzun süreli kullanıldığında koruyucu bir özellik göstermediği görüldü. Ayrıca CP'nin düşük dozlarda kullanıldığında karaciğer ve böbrekte MT'nin hasar belirteci olarak kullanılıp kullanılmayacağını kesin olarak saptanabilmesi için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulacağı görüldü.

## KAYNAKLAR

- Abraham P, Indirani K, Sugumar E.** Effect of cyclophosphamide treatment on selected lysosomal enzymes in the kidney of rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2007, 59, 143–149.
- Acar Ö.** Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Hepatotoksisitede Oksidatif Stres ve Karaciğer Hasarına Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, 2015, 26-46.
- Akçasu A, Banoğlu N, Berkarda Ş.** Farmakoloji, İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar, Nobel Tıp Kitapevi, 1992.
- Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
- Akkuş İ, Şekeroğlu R, Üner A.** Selenyum; dağılışı, metabolizması ve fizyopatolojisi. *Selçuk Ü. Tıp Fak. Dergisi*, Konya, 1991, 7 (4), 547-551.
- Aksoy M.** Beslenme Biyokimyası. Hatipoğlu Yayınları, Ankara, 2000, 541-546.
- Arumugam N, Sivakumar V, Thanissalass J, Devaraj H.** Effects of acrolein on rat liver antioxidant defense system. *Indian J. Exp. Biol.*, 1997, 35, 1373–1374.
- Aruoma O, Kaur H, Halliwell B.** Oxygen free radicals and human diseases. *The Journal of The Royal Society For the Promotion of Health*, 1991, 111, 172-177.
- Atal S.** Erişkin Erkek Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarında Kurkuminin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 2014.
- Ataya KM, Frederick A.** Effect Of Cyclophosphamide On The Immature Rat Ovary. *Cancer Res.*, 1989, 49, 1660-1664.
- Ateşşahin A, Pirinçci İ, Gürsu F, Çıkım G.** Koyunlarda Selenyum Tiroid Hormon Düzeyleri Üzerine Etkileri. *Turk J Vet Anim Sci.*, 2002, 26, 1401–1404.
- Avcı H, Sekkin S, Boyacıoğlu M, Akşit H, Tunca R, Epikmen ET, Birincioglu SS.** Ratlarda Deneysel Siklofosfamid Toksikasyonunda Silimarin ve Curcuminin Koruyucu ve Antigenotoksik Etkilerinin Araştırılması. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Dergisi*, 2016, 22 (5), 693-701.
- Bayramoğlu G.** Sıçanlarda Siklofosfamid İle Oluşturulmuş Oksidatif Strese Karşı Silimarinin Olası Koruyucu Etkileri, Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 2007, 5.
- Bertram G.** Basic Clinical Pharmacology. 12<sup>th</sup> Edition, 2012, 956

- Bernacki RJ, Bansl SH, And Gurtoo HI.** Combinations of mesna with cyclophosphamide adriamycine in treatment of mice with tumors. *Cancer Research*, 1987, 47, 799-802.
- Bhattacharjee A, Abhishek BA, Ghosh P, Biswas J, Bhattacharya S.** Protective effect of selenium nanoparticle against cyclophosphamide induced hepatotoxicity and genotoxicity in Swiss albino mice. *Journal of Biomaterials Applications*, 2014, 1-15.
- Bildik A, Vur F, Çamaş H, Dede S, Sekin S.** Beyaz Kas Hastalıklı Kuzularda Hemoglobin Tipleri ile Lipid Peroksidasyonu ve Glutasyon Düzeylerinin Araştırılması. *Y.Y.Ü . Vet. Fak. Derg., Van*, 1996 ; 7(1 -2), 95-98.
- Boxtel CJV.** Antineoplastik Ajanlar, İlaç Yararları Ve Riskleri, Farmakoterapötik Ürünler. Türk Eczacıları Birliği Yayınları, Ankara, 2007, 185-188.
- Budavari S.** The Merck Index: An Encyclopedia Of Chemicals, Drugs And Biologicals. Centennial Edition,USA, 11<sup>th</sup> Edition, 1989.
- Bulkley GB.** The Role of Oxygen Free Radicals, Doctor: A Review. *Journal of Royal Society of Medicine*, 1989, 82, 747-752.
- Candan İA.** Kadmiyum Verilen Dişi Sıçanlarda Üreme Sistemi Üzerine Melatonin ve Selenyumun Etkisi, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 2016, 81-105.
- Can G.** Antineoplastik İlaçların Yan Etkileri Ve Hemşirelik Yaklaşımları. *Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi*, 2005, 2(2): 8-15.
- Cavalletti E, Tofanetti O, Zuino F.** Comprasion of Reduced Glutathione with 2-Mercaptoethane Sulfonate to Prevent Cylophosphamide Induced Urotoxicity. *Cancer Letters*,1986, 32, 1-6.
- Chabner BA RD, Paz-Ares L, Carbonero RG, Calabresi P.** Antineoplastic Agents. In: Goodman And Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics. New York, Mcgraw Hill Press, 2001, 1389-1459.
- Cherian MG, Jayasurya A, Bay BH.** Metallothioneins in human tumors and potential roles in carcinogenesis. *Mutat Res.*, 2003, 533, 201-209.
- Cheesman KH, Slater TF.** An Introduction to Free Radical Biochemistry. *British Medical Bulletin*, 1993, 49, 481-493.

**Chmielewska M, Symonowicz K, Pula B, Owczarek T, Podhorska-Okolow M, Ugorski M, Dziegel P.** Expression of metallothioneins I and II in kidney of doxorubicin-treated rats. *Exp. Toxic Pathol.*, 2015, 67, 297-303.

**Conover WJ.** Practical Nonparametric Statistics 2<sup>nd</sup> Ed., Chapter 5 Some methods based on ranks, Section 5.2 Several independent samples. John Wiley&Sons, New York, 1980, 229-239.

**Coyle P, Philcox JC, Careya LC, Rofea AM.** Metallothionein: The Multipurpose Protein CMLS. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2002, 59, 627–647.

**Cousin FB, Cairney IM.** Some effects of selenium in sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 1961, 12, 927-943.

**Cuce G, Çetinkaya S, Koç T, Esen HH, Limandal Ç, Balcı T, Kalkan S, Akoz M.** Chemoprotective effect of vitamin E in cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 2015, 232, 7–11.

**Culling AF, Allison TR, Barr TW.** Cellular Pathology Technique. 4<sup>th</sup> Ed., Mid-County Press, London, 1985

**Çarlıoğlu A, Türkay C.** Gastrik Lenfoma. *Güncel Gastroenteroloji*, 2003, 7, 182-186.

**Deliboran A, Işık Y, Aslan H, Nacar AS, Tekgül TY, Kara H, Harmankaya M, Gezgin S.** Selenyum uygulamalarının tane mısırdaki verim parametreleri ile tanenin selenyum, protein ve yağ içeriği üzerine etkileri. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, İzmir; Şanlıurfa; Konya, 2018, 6(1), 1- 11.

**Dollery C.** Cyclophosphamide In Dollery C, Editör Therapeutic Drugs. Edinburg Churchill Livingstone, 1999, 349-53.

**Dökmeci İ.** Farmakoloji Temel Kavramlar. Edirne, 2000 : 989-1007

**Droller MJ, Saral R, Santos G.** Prevention of Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis. *Urology*, 1982, 20, 256-258.

**Duntas LH, Benvenga S.** Selenium: an element for life. *Endocrine*. 2014, 48, 756-75

**Ebadı M, Iversen PL, Haoz R, Cerutus DR, Rojas P, Happe HK, Murrin LC, Pfeiffer RF.** *Neurochem Int.*, USA, 1995, 27(1), 1-22.

**Edwardson DW, Narendrula R, Chewchuk S, Mispel K, Mapletoft JPJ, Parissenti AM.** Role of Drug Metabolism in the Cytotoxicity and Clinical Efficacy of Anthracyclines. *Current Drug Metabolism*, 2015, 16, 412-426.

**Eggert RO, Patterson E, Akers WJ, Stokstad ELR.** The role of vitamin E and selenium in the nutrition of the pig. *J. Anim. Sci*, 1957, 16, 1037.

**Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F.** Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 2014, 136(5), 359–386.

**Florianczyk B.** Metallothioneins and its role in metal regulation, binding of reactive oxygen species, apoptosis and cell differentiation. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 2007, 1 (1), 17.

**Fraser LH, Kanekel S, Kehrer JP.** Cylophosphamide toxicity: characterizing and avoiding the problem. *Drugs*, 1991, 42, 781-795.

**Freeman BA, Crapo JD.** Biology of Disease: Free Radicals and Tissue Damage. *Laboratory Investigation*, 1982, 4, 412-426.

**Fritz G, Kaina B.** Promising cellular targets for novel anticancer drugs. *Curr Cancer Drug Tar.*, 2006, 6, 561-571.

**Gate L, Tew KD.** Glutathione S-Transferases As Emerging Targets, *Expert Opin Ther Targets*, 2001, 5(4): 477-489.

**Glode M, Robinson J, Gould FS.** Protection from cyclophosphamide-induced testicular damage with an analogue of gonadotropin-releasing hormone. *Lancet*, 1981;1(8230), 1132-1134.

**Gomulkiewicz A, Podhorska M, Szulc R, Smorag Z, Wonjar A, Zabel M.** Correlation between metallothionein(MT) expression and selected prognostic factors in ductal breast cancers *Folia Histochem Cytobiol*, 2010, 48, 242-248.

**Göger H.** Yumurtacı Damızlıklarda E Vitamini Ve Selenyum Düzeylerinin Kuluçka Sonuçlarına Etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1997.

**Gültekin B.** Sisplatin Toksikitesinin Sıçan Testisinde Yarattığı Histolojik Değişimlere Çinkonun Etkisinin Araştırılması, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2013, 61.

**Haas JF, Kittelmann B, Mehnert WH, Staneczek W, Möhner M, Kaldor JM, Day NE.** Risk of leukaemia in ovarian tumour and breast cancer patients following treatment by cylophosphamide. *British Journal Of Cancer*, 1987, 55, 213-218.

- Hamer DH.** Metallothionein. *Ann. Rev. Biochem.*, Maryland, 1986, 55, 913-951.
- Hallıwell B, Gutteridge JM.** Lipid peroxidation, Oxygen Radicals, Cell Damage, and Antioxidant Therapy. *Lancet*, 1984, 1, 1396-1397.
- Hsu AC, Rotami AO, Bain J, And Rane CP.** Gonadal Function İn Males Treated With Cyclophosphamide For Nephrotic Syndrome. *Fertil Steril*, 1979, 31:173-177.
- Ilio CD, Boccio GD, Casaccia R, Aceto A, Giacomo FD, Federici G.** Selenium level and glutathione- dependent enzyme activities in normal and neoplastic human lung tissues, *Carcinogenesis*, 1987, 8 (2), 281-284.
- Kagi JHR, Kojima Y.** Chemistry and biochemistry of metallothionein. *Experientia Suppl.*, 1987, 52, 25–61.
- Karataş F, Aşkın U, Halifeoğlu İ, Dönder E.** Guatr' lı Hastalarda Antioksidan Vitaminler (A,E Ve C) , Selenyum ve Glutatyon Peroksidaz (Gsh-Px) Düzeylerinin Araştırılması, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, Elazığ, 2006, 20 (4), 277-280.
- Kaya S, Prinçci İ, Ünsal A, Karaer Z, Traş B, Bilgili A, Akar F.** Neoplastik Hastalıkların Tedavisi. Veteriner Farmakoloji, Medisan Yayınevi, Ankara, 2007, 700-716.
- Kayaalp O.** İmmün Sistem Bozuklukları ve İmmünomodülatör İlaçlar. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 11. Baskı, Ankara, 2005.
- Kayaalp O.** Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (13. Baskı), 1.Cilt, Pelikan Yayınevi , Ankara, 2012, 332-362
- Kawanishi M, Matsuda T, Nakayama A, Takebe H, Matsui S, Yagi T.** Molecular Analysis Of Mutations İnduced By Acrolein İn Human Fibroblast Cells Using Supf Shuttle Vector Plasmids, *Mut. Res. Gen. Toxicol. Environ. Mutagen*, 1998, 417: 65–73.
- Kawabata TT, Chapman MY, Kim DH, Stevens WD, Holsapple MP.** Mechanisms of in vitro immunosuppression by hepatocyte-generated cyclophosphamide metabolites and 4-hydroperoxycyclophosphamide. *Biochemical Pharmacology*, 1990, 40(5), 927-935.
- Keshan Disease Research Group Of The Chinese Academy of Medical Sciences.** Epidemiologic studies on the etiologic relationship of selenium and Keshan disease. *Chin. Med. J.*, 1979a: 92(7), 477.
- Keshan Disease Research Group Of The Chinese Academy of Medical Sciences.** Observations of effects of sodium selenite in prevention of keshan disease. *Chin. Med. J.*, 1979b, 92(7): 471-472
- Kern J, Kehrer J.** Acrolein-induced cell death: a caspase-influenced decision between apoptosis and oncosis/necrosis. *Chemico-Biological Interactions*, 2002,139, 1, 79-95.

**Kılınç K.** Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi*, 1985, 10, 60-89.

**Kim BJ, Kim YH, Kim S, Kim JW, Koh JY, Oh SH, Lee MK, Kim KW, Lee MS.** Zinc as a paracrine Effector in Pancreatic Islet Cell Death. *Diabetes*, 2000; 49, 367–372.

**Klaassen CD, Liu J, Choudhuri S.** Metallothionein: an intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol, Toxicol*, 1999, 39: 267–94

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

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

**Kolsteren P.** Kashin-Beck Disease. Nutrition unit. department of community health institute of tropical medicine. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 1992, 72: 81-91.

**Koyama H, Wada T, Nishizawa Y, Iwanaga T, Aoki Y.** Cyclophosphamideinduced ovarian failure and its therapeutic significance in patients with breast cancer. *Cancer*. 1977, 39(4): 1403-1409.

**Kumar KBH, Kuttan R.** Chemoprotective activity of an extract of phyllanthus amarus against cyclophosphamide induced toxicity in mice. *Phytomedicine*, 2005, 12, 494-500.

**Lawrence HJ, Simone J, Aur RJA.** Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in children with leukemia. *Cancer*, 1975, 36, 1572-1576.

**Limandal Ç.** Siklofosfamid Kaynaklı Sıçan Gonadotoksitesinde E Vitamininin Olası Rolünün İmmünohistokimyasal Yöntemlerle Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2013, 18-43.

**Maccubbin AE, Caballes L, Riordan JM, Huang DH, Gurtoo HI.** A cyclophosphamide/dna phosphoester adduct formed in vitro and in vivo. *Cancer Research*, 1991, 51(3), 886-92.

**Mccarroll N, Keshava N, Cimino M, Chu M, Dearfield K, Keshava C, Kligerman A, Owen R, Protzel A, Putzrath R, Schoeny R.** An evaluation of the mode of action framework for mutagenic carcinogenesis case study: cyclophosphamide. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2008, 49, 117-131.

**McCormick CC.** Induction and accumulation of metallothionein in liver and pancreas of chicks given oral zinc: A tissue comparison. *J. Nutr.*,1984; 114, 191–203.

- Matek M, Blanusa M, Grgic J.** Determination of the daily dietary selenium intake in Croatia. *Euro Food Res Tech.*, 2000, 210, 155-160.
- Matsuoka Y, Masuda H, Yokoyama M, Kihara K.** Protective effects of bilirubin against cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis in rats. *Journal of Urology*, 2008, 179, 1160-1166.
- Margoshes M, Vallee BL.** A cadmium protein from equine kidney cortex. *Journal of the American Chemical Society*, 1957, 79, 813-814.
- Martínez MM, Hill GM, Link JE, Raney NE, Tempelman RJ, Ernst CW.** Pharmacological zinc and phytase supplementation enhance metallothionein mRNA abundance and protein concentration in newly weaned pigs. *J Nutr.*, 2004, 134(3),538-544.
- Mikkelsen RL, Page AL, Bingham FT.** Factors affecting selenium accumulation by agricultural crops. in: selenium agriculture and the environment. *Soil Science Society Of America and American Society Of Agronomy*, 1989, 65.
- Moir DC, Masters HG.** Hepatosis Dietetica, Nutritional Myopathy, Mulberry Heart Disease and associated hepatic selenium levels in pigs. *Australian Veterinary Journal*, 1979, 55, 360-364.
- Montz FJ, Wolff AJ, Gambone JC.** Gonadal protection and fecundity rates in cyclophosphamide-treated rats. *Cancer Res.*, 1991, 51(8), 2124-2126.
- Mosleh, YY, Paris-Palacios S, Counderchet M, Biagianti-Risbourg S, Vernet G.** “Effects of herbicide isoproturon on metallothioneins, growth, and 60 antioxidative defenses in the aquatic worm tubifex tubifex (oligochaeta, tubificidae)”, *Ecotoxicol.*, 2005, 559-571.
- Mythili Y, Sudharsan PT, Selvakumar E, Varalakshmi P.** Protective effect of dl--lipoic acid on cyclophosphamide induced oxidative cardiac injury. *Chem. Biol. Interact.*, 2004, 151, 13–19.
- Orak E, Yanardağ R, Orak H.** Dr. Osmanoğlu Hastanesi Kardiyoloji Birimi-İÜ Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü, Türk Kardiyoloji Derneği Arş., İstanbul, 2000, 28, 230-238
- Oster O.** Prellwitz the daily dietary selenium intake of west german adults. *Biol Trace Elem Res.*, 1989; 20, 1-14.
- Özyazgan Y, Yurdakul S, Yazici H, Tüzün B, Işçimen A, Tüzün Y, Aktunç T, Pazarli H, Hamuryudan V, Müftüoğlu A.** Low Dose Cyclosporin A Versus Pulsed Cyclophosphamide İn Behçet's Syndrome: A Single Masked Trial. *Br J Ophthalmol.* 1992, 76(4), 241-243.



**Pastacı N.** Diyet İle Alınan Çinkonun Metallothionein Seviyesine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2010, 12-36

**Payne RL.** The effects of inorganic and organic selenium sources on growth performance, Carcass Traits, Tissue Mineral Concentrations, and Enzyme Activity in Poultry, Dissertation Thesis. Doctor of Philosophy (Ph.D.), Louisiana State University Electronic Thesis and Dissertation, USA, 2004.

**Pool BL, Bos RP, Niemeyer U, Theuws JLG, Schmahl D.** In vitro/ in vivo effect of mesna on the genotoxicity and toxicity of cyclophosphamide, a study aimed at clarifying the mechanism of mesna's anticarcinogenic activity. *Toxicology Letters*, 1988, 41, 49-56.

**Philcox JC, Sturkenboom M, Coyle P, Rofe AM.** Metallothionein in mice reduces intestinal zinc loss during acute endotoxin inflammation, but not during starvation or dietary zinc restriction. *J. Nutr.*, 2000, 130, 1901-1909.

**Philips FS, Sternberg SS, Cronin AP, Vidal PM.** Cyclophosphamide and urinary bladder toxicity. *Cancer Res.*, 1961, 21, 1577-1589.

**Rayman M.** The importance of selenium to human health. *Lancet*, 2000, 356, 233-41.

**Ryvolova M, Krizkova S, Adam V, Becklova M, Trnkova L, Hubalek J, Kizek R.** Analytical methods for metallothionein detection. *Curr. Anal. Chem.*, 2011, 7, 243-261.

**Sabik LME, El-Rahman SSA.** Alpha-tocopherol and ginger are protective on cyclophosphamide-induced gonadal toxicity in adult male albino rats, basic and applied pathology. *Egypt*, 2009, 21-29.

**Sato M, Bremner I.** Oxygen free radicals and metallothionein. *Free Radic. Biol. Med.* 1993; 14, 325-337.

**Sato M, Kondoh M.** Recent Studies on metallothionein: protection against toxicity of heavy metals and oxygen free radicals. *Thoku Journal Experimental Medicine*, 2002, 196, 9-22.

**Schimmel KJM, Richel DJ, Renee BA, Brick VD, Guchelaar HJ.** Cardiotoxicity of cytotoxic drugs. *Cancer Treatment Reviews*, 2004, 30, 181-191.

**Schwarz K, Foltz CM.** Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.*, 1957, 79, 3292.

**Selvakumar E, Prahalathan C, Sudharsan PT, Varalakshmi P.** Chemoprotective effect of lipoic acid against cyclophosphamide-induced changes in the rat sperm. *Toxicology*, 2006, 217, 1, 71-8.

- Senthilkumar S, Devaki T, Manohar BH, Babu MS.** Effect of squalene on cyclophosphamide-induced toxicity. *Clinica Chimica Acta*, 2006, 364, 335 – 342.
- Seward CR, Vaughan G, Hove EL.** Effect of selenium on incisor depigmentation and carbon tetrachloride poisoning in vitamin E-deficient rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1966, 121, 850-852.
- Singh RK, Kumar S, Prasad DN, Bhardwaj TR.** Therapeutic journey of nitrogen mustard as alkylating anticancer agents: Historic to future perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, 151, 401-433.
- Sunde RA.** Selenium. Handbook of nutritionally essential mineral elements. B. L. O'Dell and R. A. Sunde, eds. Marcel Dekker, Inc., New York, 1997, 493.
- Szabo C.** The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock*, 1996, 6: 79
- Sullivan VK, Bernett FR, Cousins RJ.** Metallothionein expression is increased in monocytes and erythrocytes of young men during zinc supplementation. *J. Nutr.*, 1998, 128(4), 707-713.
- Şener S.** Veteriner Farmakoloji, İ.Ü Basım Ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul, 2006, 91.
- Şimşek N, Alabay B.** Metalloiyonların Histofizyolojik Önemi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* 2007, 2 (2), 75-81.
- Thatcher N, Smith DB, Lind MJ, Anderson H, Barclay J, Chopra MP, Fitzgerald MD.** Double alkylating agent therapy with ifosfamide and cyclophosphamide for advanced non-small cell lung cancer from the manchester lung tumour group. *Cancer*, 1988, 61(1), 14-18.
- Takada K, Arefayene M, Desta Z, Yarboro CH, Boumpas DT, Balow JE, Flockhart DA, Illei GG.** Cytochrome P450 pharmacogenetics as a predictor of toxicity and clinical response to pulse cyclophosphamide in lupus nephritis. *Arthritis and Rheumatism*, 2004, 50, 2202-2210.
- Türker FA, Kayaalp SO.** “Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar, rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Feryal Matbaacılık, Ankara , 2002, 380-415.
- Ullery DE.** Basis for regulation of selenium supplements in animal diets. *J. Anim.Sci.*, 1992, 70, 3922-3927.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J.** Free Radicals and Antioxidants In Normal Physiological and Human Disease. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 160, 1-40.

- Viarengo A, Burlando B, Cavaletto BM, Ponzano E, Blasco J.** “Role of Metallothionein Against Oxidative Stres in the Mussel *Mytilus galloprovincialis*”, *Am. J. Physiol.Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, 1999, 277, 1612-1619.
- Viarengo A, Nott JA.** Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrate . *Comp. Biochem and Physiol*,1993, 104 (C), 355-372.
- Wang L, Albasi C, Faucet-Marquis V, Pfohl-Leszkowicz A, Dorandeu C, Marion B, Causserand C.** Cyclophosphamide removal from water by nanofiltration and reverse osmosis membrane. *Water Research*, 2009, 43, 17, 4115-22.
- WEB (2018)**, Sağlık Bakanlığı resmi internet sitesi, <https://hsgm.saglik.gov.tr> , Erişim 02.06.2018, 15:00
- WEB (2018)**, Türkiye İstatistik Kurumu resmi internet sitesi, <http://www.tuik.gov.tr> , Erişim 02.06.2018, 16:22
- WEB (2018)**, Dünya Sağlık Örgütü resmi internet sitesi, [www.who.int](http://www.who.int), Erişim 15.12.18, 10:10
- Wilber CG.** Toxicology of selenium : A review. *Clinic Toxicol.*, 1980, 171-230.
- West CD, Hong R, Holland NH.** Effect of cyclophosphamide on lipoid nephrosis in the human and on aminonucleoside nephrosis in the rat. *J. Pediatr.*,1966, 68: 516-524.
- Xu X, Malave A.** Protective Effect of Berberine on Cylophosphamide-Induced Haemorrhagic Cystitis In Rats, *Pharmacology & Toxicology*, 2001, 88, 232-237.
- Vuuren RJ, Visagie MH, Theron AE, Joubert AM.** Antimitotic drugs in the treatment of cancer, *Cancer Chemother Pharmacol*, 2015; 76: 1101–1112.
- Yalçın A.** Fare Karaciğerinde Çeşitli Etkenler İle Oluşturulan Doku Hasarlarında Gsh,Gst ve Selenyum Tayinleri, Doktora Tezi, Ege Üniveritesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 1993, 34.
- Yang Z, Faustino PJ, Andrews PA, Monastra R, Rasmussen AA, Ellison CD, Cullen KJ.** Decreased cisplatin / DNA adduct formation is associated with cisplatin resistance in human and neck cancer cells lines, cancer chemotherapy. *Pharmacol*, 2000, 46, 255-262.
- Yarsan E.** Etlik Piliçlerde İyonofor Grubu Antibiyotiklerle Zehirlenme : Monensin İle Vitamin E Ve Selenyum’un Birlikte veya Ayrı Ayrı Verilmesinin Bazı Histopatolojik ve Biyokimyasal Parametrelere Etkileri, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1996, 1-20.

**Yousefipour Z, Ranganna K, Newaz MA, Milton SG.** Mechanism of acrolein-induced vascular toxicity. *J Physiol Pharmacol.*, 2005, 56, 337 -353 .

**Zambenedetti P, Giordano R, Zatta P.** Metallothioneins are highly expressed in astrocytes and microcapillaries in Alzheimer's disease. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 1998, 15, 21–26.

**Zhou Z, Sun X, Kang YJ.** Metallothionein protection against alcoholic liver injury through inhibition of oxidative stress. *Exp. Biol. Med.*, 2002, 227, 214–222.

## ÖZGEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : KARABOĞA, Mehmet  
**Uyruk** : TC  
**Doğum yeri ve tarihi** : Ereğli, 24.04.1987  
**Telefon** : 05435783382  
**E-mail** : karaboga481987@hotmail.com  
**Yabancı Dil** : İngilizce

### EĞİTİM

| Derece | Kurum                                     | Mezuniyet tarihi |
|--------|---|------------------|
| Lisans | İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi | 15.06.2010       |

### İŞ DENEYİMİ

| Yıl        | Yer/Kurum                                      | Ünvan           |
|------------|--|-----------------|
| 2011-2013  | Bartın İl Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Müdürlüğü | Veteriner Hekim |
| 2013-Devam | Aydın İl Tarım Ve Orman Müdürlüğü              | Veteriner Hekim |